

Aus der Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin  
und Schmerztherapie  
Universitätskliniken des Saarlandes, Homburg/Saar  
Direktor: Prof. Dr. R. Larsen

**Effekte der intravenösen Anästhetika Propofol und Ketamin auf die durch  
Lipopolysaccharid und Tumornekrosefaktor- $\alpha$  induzierte Interleukin-8-  
Sekretion im kultivierten humanen Vollblut sowie auf die durch  
Tumornekrosefaktor- $\alpha$  und Interleukin-6 induzierte Interleukin-8-  
Sekretion in der HepG2-Zellkultur**

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes

2009

vorgelegt von Farsin Djahazi,

geboren am 07.02.1976 in Saarbrücken

Tag der Promotion:

Dekan:

Berichterstatter:

# Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung.....	5
Summary.....	6
1. Einleitung.....	8
1.1 Epidemiologie und historische Aspekte.....	8
1.2 Das Immunsystem.....	10
1.2.1 Die Immunantwort.....	10
1.2.2 Zytokine.....	12
1.2.2.1 Interleukin-1.....	14
1.2.2.2 Interleukin-6.....	15
1.2.2.3 Tumornekrosefaktor- $\alpha$ .....	16
1.2.2.4 Interleukin-8.....	17
1.3 Die Leber und die Akute-Phase-Reaktion.....	21
1.3.1 Physiologische Leberfunktion und Morphologie.....	22
1.3.2 Pathophysiologie des Leberversagens.....	23
1.3.3 Akute-Phase-Reaktion.....	24
1.4 Die Stressantwort des Organismus.....	24
1.5 SIRS und Sepsis.....	26
1.6 Anästhetika und Immunsystem.....	31
1.6.1 Propofol.....	32
1.6.2 Ketamin.....	33
1.7 Fragestellung.....	34
2. Material und Methoden.....	35
2.1 Vollblutansatz.....	35
2.2 Zellkulturansatz.....	36
2.2.1 Kultivierung der Zellen.....	37
2.2.2 Passagieren der Zellen.....	37
2.2.3 Versuchsansatz.....	37
2.3 Quantifizierung von Interleukin-8 mit ELISA.....	39
2.4 Statistik.....	40
3. Ergebnisse.....	42
3.1 Effekt von Propofol und Ketamin auf die Interleukin-8-Sekretion im kultivierten, humanen Vollblut.....	42
3.1.1 Einfluss von Propofol und Ketamin auf die unstimulierte IL-8-Sekretion im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle.....	42
3.1.2 Einfluss von TNF- $\alpha$ und LPS auf die IL-8-Sekretion.....	45
3.1.3 Einfluss von Propofol und Ketamin auf die TNF- $\alpha$ -induzierte IL-8-Sekretion.....	47
3.1.4 Einfluss von Propofol und Ketamin auf die LPS-induzierte IL-8-Sekretion.....	50
3.1.5 Zusammenfassung der Ergebnisse des Vollblutansatzes.....	53
3.2 Einfluss von Propofol und Ketamin auf die Interleukin-8-Sekretion in humanen Hepatomazellen HepG2.....	54
3.2.1 Einfluss von Propofol und Ketamin auf die IL-8-Sekretion im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle.....	54
3.2.2 Effekt von TNF- $\alpha$ und IL-6 auf die IL-8-Sekretion in HepG2-Zellen.....	57
3.2.3 Effekt von Propofol und Ketamin auf die TNF- $\alpha$ -induzierte IL-8-Sekretion.....	59
3.2.4 Einfluss von Propofol und Ketamin auf die IL-8-Sekretion nach Zugabe von IL-6.....	62
3.2.5 Zusammenfassung der Ergebnisse des Zellkulturansatzes.....	64
4. Diskussion.....	65
4.1 Verwendete Versuchsmodelle.....	65

4.2 Diskussion der Methodik.....	67
4.3 Anästhesie und Immunsystem.....	67
4.3.1 Historische Aspekte.....	67
4.3.2 Einfluss von Anästhetika auf die perioperative Stressantwort.....	68
4.4 Klinische Anwendung von Propofol und Ketamin.....	71
4.5 Substanzspezifische Effekte der Anästhetika auf das Immunsystem.....	72
4.5.1 In vivo-Studien.....	72
4.5.1.1 Immunmodulatorische Effekte von Propofol und Ketamin .....	72
4.5.1.2 Einfluss von Propofol und Ketamin auf das Gerinnungssystem.....	74
4.5.2 In vitro-Studien.....	77
4.5.2.1 Untersuchungen an isolierten Zellen.....	77
4.5.2.2 Untersuchungen im Vollblut .....	81
4.5.2.2.1 Immunmodulatorische Effekte von Propofol und Ketamin im Vollblut.....	81
4.5.2.2.2 Beeinflussung des Gerinnungssystems durch Propofol und Ketamin.....	83
4.5.2.3 Versuche am Tiermodell.....	86
4.6 Zusammenfassung.....	90
Literaturverzeichnis.....	92
Lebenslauf.....	104
Danksagung.....	105

# **Effekte der intravenösen Anästhetika Propofol und Ketamin auf die unstimulierte und stimulierte Interleukin-8-Sekretion im kultivierten humanen Vollblut sowie in humanen Hepatomazellen HepG2**

## **Zusammenfassung**

**Fragestellung:** Chirurgisches Trauma, perioperativer Stress und Krankheitsbilder wie Sepsis und SIRS haben komplexe Wirkungen auf das angeborene unspezifische sowie das erworbene spezifische Immunsystem. Anästhetika, welche kurzzeitig im Rahmen von operativen Eingriffen sowie prolongiert im Bereich der Intensivmedizin eingesetzt werden, können auf verschiedenen Ebenen in das Zusammenspiel der Komponenten des Immunsystems und ihrer Botenstoffe, den Zytokinen, eingreifen. In der vorliegenden Studie wurde die Wirkung zweier gebräuchlicher Anästhetika, Propofol und Ketamin, auf einen Baustein der inflammatorischen Reaktion betrachtet, nämlich der Sekretion des Chemokins Interleukin-8 (IL-8). Als Versuchsmodelle dienten einerseits ein Vollblutansatz, andererseits die humane Hepatomazelllinie HepG2.

**Methoden:** Die konzentrationsabhängigen Wirkungen von Propofol und Ketamin auf die Interleukin-8-Sekretion wurden zum einen im humanen Vollblut untersucht. Verglichen wurde hier die Beeinflussung der basalen IL-8-Sekretion durch die Anästhetika sowie Veränderungen der Sekretion nach Stimulation mit Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- $\alpha$ ) sowie Lipopolysaccharid (LPS). In der HepG2-Zellkultur wurde ebenfalls die Beeinflussung der IL-8-Ausschüttung ermittelt; neben der basalen Sekretion wurde in dem Ansatz zur Stimulation TNF- $\alpha$  sowie Interleukin-6 (IL-6) gewählt. Die Messung von IL-8 erfolgte mit einem spezifischen ELISA-Messsystem.

**Ergebnisse:** Im Vollblutansatz ließ sich eine signifikante Steigerung der IL-8-Sekretion sowohl durch TNF- $\alpha$  als auch durch LPS nachweisen. LPS war, im Vergleich zu TNF- $\alpha$ , der deutlich stärkere Induktor der IL-8-Ausschüttung. Ketamin bewirkte eine signifikante Abnahme der basalen, unstimulierten IL-8-Sekretion. Nach Stimulation mit TNF- $\alpha$  sowie LPS war keine statistisch signifikante Veränderung sowohl durch Propofol als auch Ketamin mehr nachweisbar. In der HepG2-Zellkultur zeigte sich, dass TNF- $\alpha$  im Gegensatz zu IL-6 zu einer signifikanten Zunahme der IL-8-Ausschüttung führte. Ketamin hatte keinen substanzspezifischen Einfluss auf die Chemokinausschüttung, jedoch führte die

Vorinkubation mit Propofol in allen Versuchsansätzen zu einer deutlichen, statistisch signifikanten Zunahme der IL-8-Sekretion.

**Schlussfolgerung:** Die Ergebnisse lassen eine Beeinflussung der IL-8-Sekretion durch die Anästhetika Propofol und Ketamin erkennen. Während die antiinflammatorische Komponente von Ketamin nur bezogen auf die basale IL-8-Ausschüttung im Vollblutansatz signifikant war, zeigte sich bezogen auf Propofol eine signifikante Erhöhung sowohl der basalen, als auch der stimulierten IL-8-Sekretion von HepG2-Zellen. In humanen Hepatomazellen HepG2 zeigte Propofol also einen deutlichen proinflammatorischen Effekt.

## **Effects of the intravenous anaesthetics propofol and ketamine on unstimulated and stimulated interleukin-8-secretion in cultured whole blood and in human hepatoma cells HepG2**

### **Summary**

**Aim:** Surgical trauma, perioperative stress, and disease patterns such as sepsis and systemic inflammatory response syndrome (SIRS) affect both the genuine unspecific immune system and the acquired specific immune system in a complex manner. Anaesthetics used short-term in clinical surgery or long-term in intensive care influence the interaction between the components of the immune system and their messengers, called cytokines on several levels. The present study investigates the effects of two commonly used anaesthetics, propofol and ketamine, on modulation of the inflammatory response as assessed by the secretion of the chemokine interleukin-8. To study this, a whole-blood assay and a HepG2 cell culture system were used as experimental models.

**Methods:** The effects of different concentrations of propofol and ketamine on the interleukin-8 secretion in human whole blood were examined by comparing the influence of the anaesthetics on the basal IL-8 secretion and by comparing changes of the secretion-process after stimulation with either TNF- $\alpha$  or LPS. The effects on the secretion of IL-8 were also investigated in the HepG2 cell culture. In addition to basal secretion, IL-8-release was studied after stimulation with TNF- $\alpha$  or IL-6. IL-8 concentrations were measured with ELISA.

**Results:** In the whole blood assay, I could show a significant increase of the IL-8-secretion caused by both TNF- $\alpha$  and LPS. Compared to TNF- $\alpha$ , LPS proved to be the stronger inducer

of the IL-8 secretion. With respect to the basal, non-stimulated IL-8 secretion, ketamine caused a significant decrease. After stimulation with TNF- $\alpha$  or LPS, neither propofol nor ketamine caused a statistically significant change. In the HepG2 cell culture, TNF- $\alpha$  led to a significant increase of the IL-8-secretion, whereas IL-6 did not. Although ketamine had no specific impact on the chemokine secretion, preincubation with propofol led in all experiments to a distinct and statistically significant increase of the IL-8-secretion.

**Conclusion:** These results suggest that the anaesthetics propofol and ketamine influence the IL-8-secretion. The antiinflammatory component of ketamine is only significant with respect to the basal IL-8-secretion in whole blood. However, propofol leads to a significant increase of both the basal and the stimulated IL-8 secretion of HepG2-cells. With respect to the latter, propofol has an evident proinflammatory effect.

## **1. Einleitung**

### **1.1 Epidemiologie und historische Aspekte**

Zu den Haupttodesursachen auf Intensivstationen zählen die schwere Sepsis und der septische Schock. Sie gehören zudem zu den kostenintensivsten Krankheitsbildern der modernen Intensivmedizin. Die Letalität ist abhängig von Grund- und Begleiterkrankungen, der Lokalisation des Infektfokus, dem Alter des Patienten und dem Schweregrad des Krankheitsbildes, und sie ist mit 30–50 % trotz moderner intensivmedizinischer Methoden immer noch sehr hoch.

Grundlage für klinische und epidemiologische Studien zur Sepsis waren die mit der Konsensuskonferenz von 1992 eingeführten einheitlichen Definitionen von „systemic inflammatory response syndrome“ (SIRS), „Sepsis“, „schwere Sepsis“ und „septischer Schock“ (BONE, 1992). Trotz der gesundheitsökonomischen Bedeutung der Sepsis fehlen in Deutschland valide epidemiologische Daten zu Inzidenz, Prävalenz und Letalität. Im Folgenden werden mehrere Studien aus Europa und den USA vorgestellt. In unseren Bereichen ist im Mittel mit 5 Erkrankungen an Sepsis auf 1000 Krankenhauspatienten zu rechnen (MARTIN, 1991), in akademischen Lehrkrankenhäusern der Maximalversorgung beträgt die Inzidenz bezogen auf alle Krankenhauspatienten 1,3–2 % (KIEFT, 1993; SANDS, 1997). Bei Intensivpatienten liegt aufgrund der höheren Infektgefährdung die Inzidenz bei etwa 10 % (LE GALL, 1993). In den USA geht man nach einer neueren Schätzung von jährlich etwa 751.000 Fällen einer schweren Sepsis aus, entsprechend einer Inzidenz von 0,3 %. Die Letalität beträgt 28,6 %. Sowohl bei der Inzidenz als auch bei der Letalität zeigt sich eine Altersabhängigkeit im Sinne einer altersabhängigen Zunahme (ANGUS, 2001). Bei Patienten auf Intensivstationen liegt aufgrund des Patientenkollektives die Inzidenz einer Sepsis deutlich höher. Die Häufigkeit der Sepsis (ohne schwere Sepsis und septischen Schock) liegt über den gesamten Aufenthalt auf einer Intensivstation in verschiedenen Studien zwischen 10 % und 32 % (ANGUS, 2001; PITTET, 1995; SALVO, 1995). Die Häufigkeit einer schweren Sepsis und eines septischen Schockes wird mit 5,5 % und 11,3 % angegeben (LE GALL, 1995; TERES, 2002; WICHMANN, 2000).

Die Prävalenz eines „systemic inflammatory response syndrome“ (SIRS) ist sehr hoch. Bis zu 33 % aller behandelten Patienten im Krankenhaus erfüllen zu irgendeinem Zeitpunkt ihrer



Behandlung mindestens zwei SIRS-Kriterien, auf Intensivstationen zeigen sogar über 80 % aller Patienten Zeichen einer systemischen Inflammation, obwohl nur selten eine Infektion nachgewiesen wird (MUCKART, 1997; SALVO, 1995; SANDS, 1997).

Schon im Jahre 400 v. Chr. beobachtete Hippokrates ein Fieber, welches verursacht werde durch eine Materie, die faule. Eine „Fäulnis des Blutes“, die ein kontinuierliches Fieber bedinge, wurde von Ibn Sina um 1000 n. Chr. beschrieben. Koch und Pasteur etablierten um 1860 die moderne Mikrobiologie. Die Ära der Endotoxinforschung seit 1892 bis zur Gegenwart ist verbunden mit Namen wie Pfeifer, Centanni, Boivin, Morgan, Goebel, Shear, Westphal und Rietschel. Seit den 1970er Jahren fokussiert sich das wissenschaftliche Interesse auf die Aufklärung des pro- und anti-inflammatorischen Mediator-Zytokinnetzwerks (nach WERDAN, SCHUSTER, MÜLLER-WERDAN, 2005).

Die medizinische Forschung richtete bei ihren Bemühungen, die komplexen Vorgänge des Immunsystems aufzudecken, ihr Augenmerk auch auf den Einfluss verschiedener Anästhesieverfahren auf die perioperative Immunfunktion und deren Modulation.

Neben dem eigentlichen chirurgischen Eingriff kann es durch jede sonstige invasive Maßnahme am Patienten zu einem Eindringen von Mikroorganismen und damit zu einer Aktivierung des Immunsystems kommen. Beispiele hierfür wären die präoperative Anlage peripherer- und zentraler Venenkatheter, invasive Blutdruckmessung und die Intubation des Patienten. Es sind jedoch nicht nur Mikroorganismen, welche das Immunsystem zu aktivieren vermögen, sondern theoretisch jede Substanz, welcher der Patient ausgesetzt wird. In einer systematischen Untersuchung verschiedener Anästhesieverfahren an mit Milzbrandernregern infizierten Meerschweinchen beobachtete beispielsweise Snel, dass die Narkose die Immunfunktion beeinträchtigen kann (SNEL, 1903). Das chirurgische Trauma bewirkt neben einer lokalen Entzündungsreaktion auch eine systemische Aktivierung des Immunsystems und des Neuroendokriniums. Das Auftreten eines Multiorgan dysfunktionssyndroms (MODS) ist ein zentrales Problem der operativen Intensivmedizin. Früher sah man als Hauptursache das Eindringen pathogener Mikroorganismen an, jedoch zeigte sich im Laufe der Zeit, dass eine inadäquate Antwort des unspezifischen Immunsystems maßgeblich an der Pathogenese des MODS beteiligt ist (BEAL, 1994; LIVINGSTONE, 1995; BONE, 1996). Nach der heutigen Nomenklatur wird die generalisierte Entzündungsreaktion als „systemic inflammatory response syndrome“ (SIRS) bezeichnet, welches die Inflammation aus verschiedenen Ursachen einschließt, z. B. die Minderperfusion eines Organs, die Aktivierung immunkompetenter Zellen durch Fremdoberflächen (z. B. Herz-Lungen-Maschine, Mc BRIDE, 1995), Verbrennung oder auch durch medikamentös-toxische Prozesse. Als Sepsis

wird eine Inflammation durch Infektion bezeichnet. Es kommt entweder durch das körpereigene Immunsystem oder durch den Einfluss der Erreger und ihrer Toxine zu einer Zytokinantwort, welche in der Auslösung einer systemischen Entzündungsantwort mündet. Mechanismen, welche lokal begrenzt sinnvoll und überlebenswichtig sind, haben im Rahmen der generalisierten Hyperinflammation infektiöser oder nichtinfektöser Genese eine verheerende Wirkung auf den Organismus.

Die Behandlung eines Menschen, dessen körpereigene Regulationsmechanismen aufgrund einer systemischen Inflammation aus dem Ruder laufen, stellt, trotz der in den letzten Jahren gewonnenen Erkenntnisse, eine andauernde Herausforderung für die Medizin dar. Das komplexe Zusammenspiel von Botenstoffen und Veränderungen des Stoffwechsels aufgrund der Dysfunktion verschiedener Organe machen eine gezielte Therapie nahezu unmöglich.

Ziel dieser Arbeit ist es, den Einfluss zweier Anästhetika, welche in der Intensivmedizin zur Analgosedierung kritisch kranker Patienten eingesetzt werden, auf einen kleinen aber wichtigen Baustein der inflammatorischen Reaktion, die Sekretion von Interleukin-8, zu untersuchen.

## **1.2 Das Immunsystem**

### **1.2.1 Die Immunantwort**

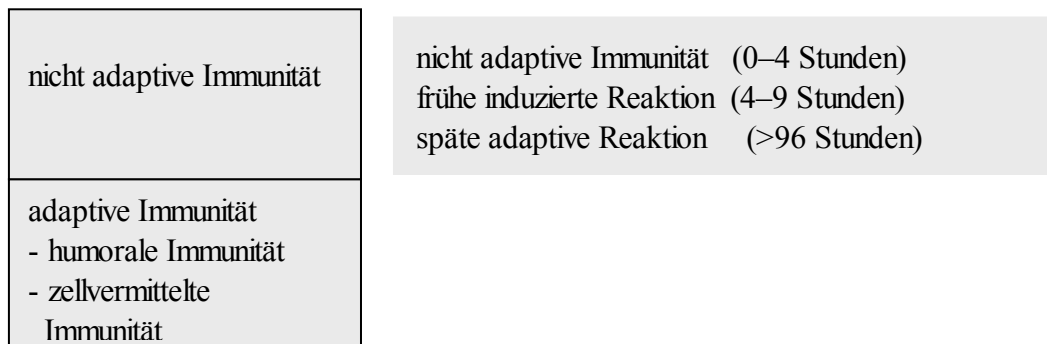
Das Immunsystem des Menschen besteht aus etwa einer Billion Lymphozyten. Es setzt sich aus denjenigen Geweben zusammen, welche zum lymphatischen System und zum retikulohistozytären System (RHS) gehören.

Bestimmte Substanzen werden vom Organismus als „fremd“ erkannt und lösen eine wirksame Abwehrreaktion aus, die Immunreaktion. Sie werden deshalb als Antigen (*Antikörper-Generator*) bezeichnet. Um ein Antigen unschädlich zu machen, setzt der Körper zwei verschiedene Abwehrmechanismen ein, die humorale Immunität und die zellvermittelte Immunität.

Die humorale Immunität geht mit der Bildung von Antikörpern einher, welche durch Antikörper - produzierende Zellen gebildet werden. Hierzu zählen die B-Lymphozyten und die aus ihnen abgeleiteten Plasmazellen. Sie wehren hauptsächlich Angriffe durch extrazelluläre Parasiten, wie Bakterien, ab.

Die zellvermittelte Immunität wird von Lymphozyten getragen, welche im Thymus gelernt haben, zwischen körpereigenem und körperfremdem Material zu unterscheiden. Diese T-Lymphozyten tragen auf ihrer Oberfläche antikörperähnliche Rezeptoren und gehen hauptsächlich gegen intrazelluläre Parasiten viraler und bakterieller Natur vor.

Nur selten verursachen Mikroorganismen, mit denen der Mensch in Kontakt kommt, merkliche Erkrankungen. Meist werden die Eindringlinge innerhalb von Stunden aufgespürt und durch Abwehrmechanismen zerstört, die nicht antigenspezifisch sind und die keine lange Anlaufphase benötigen. Diese erste Verteidigungslinie des Organismus ist die angeborene Immunität. Nur wenn sie durchbrochen wird, kommt es zu einer adaptiven Immunantwort mit der Bildung von antigenspezifischen Effektorzellen sowie Gedächtniszellen, die einer zweiten, späteren Infektion mit demselben Erreger vorbeugen.



**Abb. 1.1: Komponenten des Immunsystems und zeitlicher Ablauf der Reaktion**

Die Immunreaktion kann in verschiedene Phasen unterteilt werden: die angeborene Immunität (0–4 Stunden nach Infektion), die frühe induzierte Reaktion (4–96 Stunden) und die späte adaptive Reaktion (> 96 Stunden) (s. Abb. 1.1). Bei erneuten Infektionen mit demselben Erreger greifen die schützende Immunität und das immunologische Gedächtnis beschleunigend in den Verlauf ein.

Die alternative Komplementaktivierung bildet die erste nichtadaptive Verteidigungslinie gegen Mikroorganismen. Der Faktor C3 wird im Serum spontan zu C3a und C3b gespalten. Wenn er nicht kovalent an eine Zelloberfläche bindet, wird er schnell inaktiviert. Faktor B bindet an der Zelloberfläche nun nicht kovalent an C3b und wird durch die Protease Faktor D in Bb und Ba gespalten. Auf Körperzellen verhindern CR 1 (Komplementrezeptor 1), DAF (delay-accelerating factor) und MCP (Membran-Cofaktor der Proteolyse) sowie das Plasmaprotein Faktor H die weiteren Aktivierungsschritte. Auf der Oberfläche von Krankheitserregern existieren keine dieser Komplementregulierenden Proteine, und es kommt zur Bindung von Faktor P (Properdin) an den C3b-Bb-Komplex und damit zu dessen Stabilisierung. Dieser Komplex wirkt als C3-Konvertase, und es kommt zu einer weiteren

Spaltung von C3 und damit zu einer Ablagerung weiterer C3b-Moleküle auf der Zelloberfläche des Eindringlings und zu dessen Opsonierung (PANGBUM, 1986; LISZEWSKI, 1991). Neben der Opsonierung kommt es im Folgenden über die Bildung trimolekularer Komplexe C4b2b3b und C3bBbC3b zur Spaltung von C5. Die beiden Produkte der C5-Spaltung fungieren einerseits als Anaphylatoxin und chemotaktischer Lockstoff (C5a), andererseits wird durch sie die Bildung des Membranangriffskomplex (MAC) eingeleitet (C5b). Der „Anker“ C5b rekrutiert dabei nacheinander die Faktoren C6, C7 und C8 und der so entstandene C5b678-Komplex startet dann die Polymerisierung von C9. Nach der Zusammenlagerung von bis zu 12 - 18 C9-Monomeren stellt der C5b678poly9-Komplex den fertigen Membranangriffskomplex dar, welcher die Zielzelle unter anderem durch Porenbildung in der Zellmembran attackiert und zu ihrer Lyse führt (BOHANA-KASHTAN, 2004).

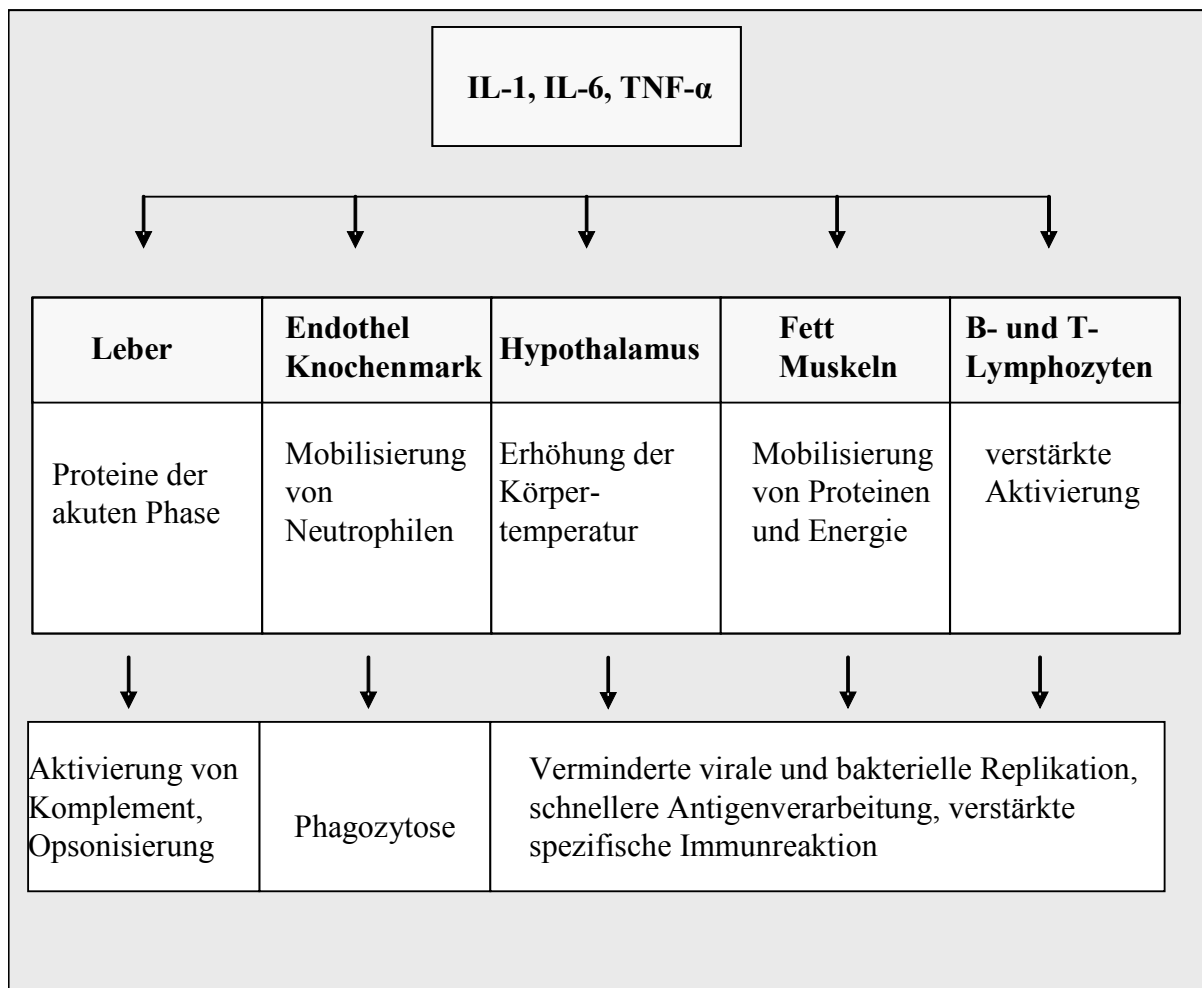
Eine weitere Komponente der frühen Immunantwort sind die Phagozyten. Man kann zwei Hauptfamilien unterscheiden: auf der einen Seite die Makrophagen, welche kontinuierlich aus zirkulierenden Monozyten heranreifen, das Blutgefäßsystem verlassen und ins Gewebe einwandern, und auf der anderen Seite die Neutrophilen oder polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten (PMNs), welche täglich in großen Mengen neu entstehen und verloren gehen. Diese Zellen können nicht nur opsonierte Partikel phagozytieren, sondern auch viele Pathogene direkt erkennen und verdauen. Zu deren Rezeptoren gehören z. B. der LPS-Rezeptor (CD14), der Mannoserezeptor oder auch die Leukozytenintegrine CD11b/CD18 (HAUSCHILDT, 1995; ULEVITCH, 1995).

### **1.2.2 Zytokine**

Neben der direkten Phagozytose von Krankheitserregern spielt die Ausschüttung von Zytokinen und Entzündungsmediatoren eine Schlüsselrolle in der Immunantwort. Ziel ist es, noch mehr phagozytierende Zellen und Effektormoleküle an den Infektionsherd zu locken. Zu den Mediatoren, welche durch Phagozyten freigesetzt werden, gehören eine Reihe unterschiedlicher Moleküle wie Prostaglandine, Sauerstoffradikale, Stickstoffmonoxid (NO), Leukotriene, speziell LTB<sub>4</sub>, sowie der plättchenaktivierende Faktor (PAF).

Die Zytokine haben sowohl lokale wie auch systemische Effekte, sie lassen sich aufgrund ihrer Funktion in drei Gruppen aufteilen. Neben TNF- $\alpha$  gelten die Zytokine IL-1, IL-6, IL-8 und  $\alpha$ - und  $\beta$ -Interferon als Zytokine der natürlichen Immunabwehr und der Entzündungsreaktion. Eine zweite Gruppe umfasst die immunregulatorischen Zytokine,

welche im Wesentlichen das Wachstum und die Differenzierung von Lymphozyten kontrollieren und die Immunantwort steuern. Zu ihnen gehören IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15,  $\gamma$ -Interferon und TGF- $\beta$ . Die dritte Gruppe schließt solche Zytokine ein, welche das Wachstum und die Differenzierung von hämatopoetischen Vorläuferzellen beeinflussen. Hierzu zählen IL-3, IL-7, IL-9, IL-11, SCF („stem cell factor“), GM-CSF, G-CSF und M-CSF (BAENKLER, 1995; CHENSUE, 2001).



**Abb. 1.2: Wirkung von TNF- $\alpha$ , IL-1 und IL-6 (nach JANEWAY, TRAVERS 1997)**

Das biologische Spektrum der Zytokine TNF- $\alpha$ , IL-1 und IL-6 ist sehr breit gefächert (s. Abb. 1.2). In der Leber kommt es durch diese Botenstoffe zur Initiation der Akute-Phase-Reaktion mit der Umstellung der Proteinbiosynthese auf die Abwehrreaktion des Organismus und der Bildung einer Vielzahl von Proteinen, welche diese direkt sowie indirekt unterstützen. Ein Effekt, der ebenfalls zur Verbesserung der Immunabwehr beiträgt, ist die Wirkung der Zytokine auf den Hypothalamus. Es kommt hierbei zu einer Erhöhung der Körpertemperatur und so zu besseren Bedingungen für die Abwehr, da die meisten Krankheitserreger bei niedrigen Temperaturen besser wachsen. Adaptive Immunantworten dagegen sind bei

höheren Temperaturen intensiver und die Wirtszellen besser gegen die zerstörerischen Wirkungen von TNF- $\alpha$  geschützt. Daher werden diese Zytokine auch neben anderen als endogene Pyrogene bezeichnet, da sie aus einer körpereigenen Quelle stammen, im Gegensatz zu den exogenen Pyrogenen aus Bakterien. Die antreibende Wirkung vor allem von IL-1 und IL-6 auf den Stoffwechsel der Muskel- und Fettzellen fördert die für die Temperaturerhöhung notwendige Energiemobilisierung. Das Endothel des Knochenmarkes wird zudem angeregt, vermehrt neutrophile Zellen freizusetzen. B- und T-Lymphozyten werden stärker aktiviert, was zusammen mit einer beschleunigten Antigenverarbeitung durch die erhöhte Temperatur die adaptive Immunantwort verstärkt.

Im Folgenden werden die für diese Arbeit relevanten Zytokine IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  und IL-8 kurz vorgestellt.

### **1.2.2.1 Interleukin-1**

Die Interleukin-1-Familie (IL-1 $\alpha$  159 AS, Monomer; IL-1 $\beta$  153 AS, Monomer) verdient besondere Beachtung, zum einen wegen der Funktion der beiden Zytokine IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$  als Hauptmediatoren der Entzündungsreaktion bei der nichtadaptiven Immunabwehr, zum anderen kommt dem IL-1 $\beta$ -converting enzyme (ICE; Caspase 1) eine zentrale Bedeutung bei der Apoptose zu. Ebenfalls zur IL-1-Familie hinzugerechnet wird IL-18, ein von Monozyten sezerniertes Zytokin, welches zusammen mit IL-12 die IFN- $\gamma$ -Produktion stimuliert.

IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$  binden an dieselben zwei Rezeptoren und zeigen daher eine sehr ähnliche, wenn auch nicht identische biologische Aktivität. Der 80 kDa große Typ-I-Rezeptor (CD 121 a) besitzt eine signaltransduzierende intrazelluläre Domäne, während der 60 kD große Typ-II-Rezeptor (CD121 b) kein Signal weitergibt. Zu der Familie der IL-1-Rezeptoren werden auch rezeptorassoziierte Moleküle gezählt, wie IL-1-RacP und IL-1-RrP.

IL-1-Rezeptoren sind in unterschiedlicher Dichte auf zahlreichen Zelltypen anzutreffen, ein Hinweis auf die pleiotropen Wirkungen des Zytokins. Von der Zelloberfläche kann zudem ein löslicher IL-1-Rezeptor freigesetzt werden mit der Fähigkeit, IL-1 in Lösung zu binden. Es gibt zusätzlich einen natürlichen, spezifischen Inhibitor mit Strukturhomologie zu den beiden IL-1-Molekülen. Obwohl dieser IL-1-Rezeptorantagonist (IL-1ra) an beide IL-1-Rezeptoren bindet, erfolgt keine zelluläre Aktivierung. IL-1ra wird hauptsächlich von Monozyten/Makrophagen gebildet als Antwort auf dieselben Stimuli, welche auch zur Bildung von IL-1 führen, und dient somit als ein Mittel zur Kontrolle des Ausmaßes der Entzündungsreaktion.

In ihrer Wirkung sind sich IL-1 und TNF- $\alpha$  sehr ähnlich, jedoch gibt es im Wirkspektrum auch Unterschiede. Die wesentlichen Funktionen des IL-1 sind die Stimulation von T-Helferzellen mit der Induktion von IL-2 und IL-2-Rezeptoren und die Stimulation des klonalen Wachstums und der Antikörperbildung von B-Zellen. IL-1 wird wie TNF- $\alpha$  von Monozyten/Makrophagen freigesetzt, zudem wird es aber auch von einer Vielzahl weiterer Zellen einschließlich Parenchymzellen gebildet. Mit Endotoxin stimulierte glatte Gefäßmuskelzellen und Kardiomyozyten bilden IL-1, retinieren das Zytokin jedoch intrazellulär. Die Bedeutung dieses intrazellulären Zytokinpools ist zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht klar (BAENKLER, 1995; LOPPNOW, 2001; WERDAN, 2005).

### 1.2.2.2 Interleukin-6

Das Zytokin Interleukin-6 (IL-6) gehört zu der Familie der Hämatopoetine (alternative Bezeichnung: IFN- $\beta_2$ , BSF-2, BCDF; 184 AS; Monomer) und ist ebenso wie IL-1 und TNF- $\alpha$  durch eine Pleiotropie biologischer Wirkungen gekennzeichnet. Es hat im Gegensatz zu ihnen jedoch auch ein antiinflammatorisches Potential. Die Bildung in den Monozyten und vielen anderen Zellen wird durch Endotoxin, IL-1 und TNF- $\alpha$  aber auch durch Katecholamine stimuliert.

Der Rezeptor besteht aus  $\alpha$ - und  $\beta$ -Untereinheiten. Die Bindung von IL-6 erfolgt an ein 80 kD großes Molekül, die  $\alpha$ -Kette (CD 126). Der Komplex aus IL-6 und IL-6-Rezeptor- $\alpha$ -Kette assoziiert mit zwei gp-130-Molekülen ( $\beta$ -Kette), welche selbst nicht IL-6 binden, aber die Affinität der  $\alpha$ -Kette zum Liganden erhöhen. Die beiden  $\beta$ -Ketten bilden ein kovalent verknüpftes Dimer, das für die Signaltransduktion verantwortlich ist. Das gp 130 ist auch am Rezeptorkomplex von IL-11, Cardiotrophin, LIF (leukaemia inhibitory factor), CNTF (ciliary neurotrophic factor), Oncostatin M und anderen beteiligt. Es gibt ebenfalls eine lösliche Form der Kette des IL-6-Rezeptors, welche mit gp 130 interagieren kann. Eine lösliche Form von gp 130 ist ebenfalls bekannt.

Die biologischen Wirkungen von IL-6 sind gekennzeichnet durch eine wesentliche Funktion als Mediator der Akute-Phase-Reaktion. Es führt in der Leber zur Freisetzung von Typ-II-Akute-Phase-Proteinen, namentlich Fibrinogen,  $\alpha_2$ -Makroglobulin und  $\alpha_1$ -Antichymotrypsin, welche sich von den durch TNF- $\alpha$  und IL-1 induzierten Typ-I-Akute-Phase-Proteinen unterscheiden. IL-6 hemmt zudem die endotoxinstimulierte IL-1- und TNF- $\alpha$ -Synthese *in vitro* und *in vivo*. Darüber hinaus stimuliert IL-6 die Synthese von ACTH und damit die Bildung von Glucocorticoiden. Eine weitere wichtige Funktion hat IL-6 im Immunsystem als

ein wichtiger Differenzierungsfaktor für myeloide Zellen (BEANKLER, 1995; BARTON, 1997; WERDAN, 2005).

### **1.2.2.3 Tumornekrosefaktor- $\alpha$**

Ein weiteres von Phagozyten ausgeschüttetes Zytokin mit einer breiten Wirkung ist Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- $\alpha$ , TNF-Familie; alternative Bezeichnung: Cachectin; 157 AS, Trimere). TNF- $\alpha$  ist ein zentraler Mediator entzündlicher Prozesse, wurde jedoch ursprünglich beschrieben als eine Substanz, die es vermag, Tumore zu nekrotisieren. Die tatsächliche Entdeckung einer solchen Substanz geht zurück ins Jahr 1893, als der Chirurg Dr. William Coley am New Yorker Memorial Hospital bemerkte, dass sich bei einem Patienten ein Sarkom im Halsbereich komplett zurückbildete nach zwei aufeinanderfolgenden Episoden eines Erysipels. Die Reinigung und Charakterisierung des Moleküls erfolgte 1984 durch Pennica.

Der humane TNF- $\alpha$  wird als 26 kDa-Prohormon synthetisiert und lagert sich nach Acylierung in die Zellmembran ein als Typ-II-Membranprotein. Die Vorstufe ist biologisch aktiv und entfaltet ihre Wirkung vor allem im Zusammenhang mit Zell-zu-Zell-Kontakten. Das reife TNF-Molekül entsteht durch proteolytische Spaltung der Vorstufe; dieser Schritt scheint hochreguliert zu sein. Das Monomer des so entstandenen 17 kDa-Moleküls ist biologisch nicht aktiv. Erst durch Trimerisierung entsteht das biologisch aktive TNF-Molekül.

Das Spektrum der zellulären Wirkungen ist ausgesprochen pleiotrop und abhängig vom Zelltyp und der Konzentration. Es kann sich dabei um aktivierende, proinflammatorische oder apoptotische Wirkungen handeln.

Makrophagen und Monozyten sind einerseits eine wesentliche Quelle der TNF- $\alpha$ -Freisetzung, andererseits Zielzellen der TNF- $\alpha$ -Wirkungen zur Aktivierung des bakteriziden Arsenal der Zelle sowie der Freisetzung sekundärer Zytokine. Über eine veränderte Expression von Adhäsionsmolekülen auf Granulozyten und Endothelzellen kommt es zur Adhäsion der Neutrophilen und zu transendothelialer Migration. Auch auf eosinophile Granulozyten und T-Lymphozyten wirkt TNF- $\alpha$  aktivierend, die Proliferation hämatopoetischer Stammzellen wird hingegen inhibiert. Über mehrere Transduktionswege wirkt TNF- $\alpha$  auf Kardiomyozyten kardiodepressiv, auf die glatte Gefäßmuskulatur erschlaffend. Neben den kardiodepressiven Wirkungen wurden in den vergangenen Jahren auch kardioprotektive Effekte beschrieben (REITHMANN, 1994; EL-ANI, 2007). Klinisch zeigt sich speziell an kleinen Venuolen ein gesteigerter Blutfluss, eine erhöhte Permeabilität für Flüssigkeit, Proteine und Zellen, wie z.B.



polymorphkernige Leukozyten, Makrophagen und Lymphozyten. Durch die stärkere Adhäsion von Thrombozyten an den Gefäßwänden kommt es im weiteren Verlauf zu einem Verschluss des Gefäßes und damit zu einer Begrenzung der Infektion. Das Gewebe wird über regionale Lymphknoten entwässert, in denen wiederum die adaptive Immunreaktion stattfindet. Damit ist die Infektion regional begrenzt. Die systemische Wirkung hat zwei Gesichter. Einerseits bewirkt TNF- $\alpha$  in der Leber die Bildung der Akute-Phase-Proteine vom Typ I. Andererseits kommt es im Rahmen einer Sepsis an sämtlichen kleinen Gefäßen zu oben beschriebenen Effekten und damit zu einem Übertritt von intravasaler Flüssigkeit und Proteinen in das Interstitium und in Folge zu systemischen Ödemen, Hypotension, Hypoproteinämie und Neutropenie mit anschließender Neutrophilie. Die Blutgerinnung ist alteriert, die Thrombozytenvorräte werden im Rahmen der Verbrauchskoagulopathie erschöpft, und es kommt im Verlauf zu Blutungen, zum Multiorganversagen und unbehandelt zum Tod im septischen Schock. Bei Mausmutanten mit einem Defekt im TNF- $\alpha$ -Rezeptor kommt es niemals zu einem solchen septischen Schock. Die wertvollen Eigenschaften von TNF- $\alpha$  bei der Eindämmung lokaler Infektionen stehen somit im Gegensatz zu den verheerenden Folgen, die es als Schlüsselmolekül bei der Entstehung des septischen Schocks hat (WERDAN, 2005; BAENKLER, 1995; AGGARWAL, 1996).

#### **1.2.2.4 Interleukin-8**

Interleukin-8 (IL-8) gehört zu der Familie der Chemokine. Diese kleinen Proteine werden als Reaktion auf Entzündung sezerniert und fungieren hauptsächlich als chemische Lockstoffe, indem sie phagozytierende Zellen aus dem Blut zu den Infektionsherden locken. Eine weitere wichtige Funktion der Chemokine sind Regulatorfunktionen außerhalb des Kompartimentes der Blutzellen, wie z. B. Angiogenese, Organentwicklung und Tumorentstehung, -wachstum und -metastasierung. Die Angiogenese wird beispielsweise sowohl von proangiogenetischen Chemokinen wie IL-8 als auch von angiostatischen Chemokinen wie IP-10 reguliert (GASPERINI, 1999; ROSENKILDE, 2004).

Die Mitglieder der Chemokinfamilie lassen sich in drei große Gruppen einteilen, die CC-Chemokine mit zwei benachbarten Cysteinen, die CXC-Chemokine, in denen die beiden Cysteinreste durch eine andere Aminosäure getrennt sind, und die C-Chemokine, welche nur einen Cysteinrest an der selben Stelle wie die anderen Chemokine besitzen. Die CXC-Chemokine fördern im Allgemeinen die Wanderung der Neutrophilen, während die CC-Chemokine hauptsächlich die Wanderung der Monozyten unterstützen. Die C-Chemokine

sind stärker spezialisiert. Lymphotactin lockt T-Zell-Vorläufer zum Thymus, Eotaxin dagegen, ein Produkt der T<sub>H</sub>2-Zellen, zieht Eosinophile chemisch an (s. Abb. 1.3).

IL-8 gehört zu den CXC-Chemokinen, synonym angewendete Bezeichnungen sind Neutrophile-aktivierendes Protein 1 (NAP-1/IL-8), monocyte-derived neutrophil-chemotactic factor (MDNCF), neutrophil-chemotactic factor (NCF), neutrophil-activating factor (NAF), monocyte-derived neutrophil-activating factor (MDNAF), monocyte-derived neutrophil-activating protein (MONAP), leucocyte inhibitory factor (LIF), lymphocyte-derived neutrophil-activating peptide (LYNAP) und granulocyte-chemotactic peptide (GCP). Es wird beim Menschen auf Chromosom 4q12-q21 kodiert und ist ein einkettiges, aus 72 AS bestehendes nichtglykosyliertes Protein mit einer Molekülmasse von 8 kDa. Hauptproduzenten sind stimulierte Monozyten und T-Lymphozyten sowie in geringerem Maße Endothelzellen, Hepatozyten, Hautfibroblasten, Keratinozyten und Makrophagen.

Chemokin	Unterklasse	produziert durch	Wirkung auf		
			T-Zellen	Monozyten	Neutrophile
<b>IL-8</b>	CXC	Monozyten Makrophagen Fibroblasten Keratinozyten	chemotaktischer Faktor für naive T-Zellen		chemotaktischer Faktor Aktivierung
<b>PBP/β-TG/ NAP-2</b>	CXC	Blutplättchen			chemotaktischer Faktor Induktion der Degranulation
<b>MIP-1β</b>	CC	Monozyten Makrophagen Neutrophile Endothel	chemotaktischer Faktor für CD8-T-Zellen		
<b>MCP-1 oder MCAF</b>	CC	Monozyten Makrophagen Fibroblasten Keratinozyten	chemotaktischer Faktor für T-Gedächtniszellen	chemotaktischer Faktor Aktivierung	
<b>RANTES</b>	CC	T-Zellen	chemotaktischer Faktor für CD4-T-Gedächtniszellen	chemotaktischer Faktor	
<b>Lymphotactin</b>	C	Stroma des Thymus einige T-Zellen	chemotaktischer Faktor lockt T-Zell-Vorläufer in Richtung Thymus		
<b>Eotaxin</b>	C	Th2-Zellen			chemotaktischer Faktor auf und Aktivierung von Eosinophilen

**Abb. 1.3: Eigenschaften einiger ausgewählter Chemokine (nach JANEWAY, TRAVERS 1997)**

Chemokine werden als Reaktion auf bakterielle Produkte und Viren gebildet, aber auch auf Agentien, welche physische Schäden verursachen, wie beispielsweise Harnsäurekristalle bei Gicht. Beim Anlocken von Zellen erfüllt IL-8 zweierlei Funktionen: Erstens wandelt sich unter seinem Einfluss die zunächst rollende Interaktion der Leukozyten mit den Endothelzellen in eine stabile Bindung um, zweitens werden die Zellen entlang eines steigenden Konzentrationsgradienten zum Infektionsort geleitet.

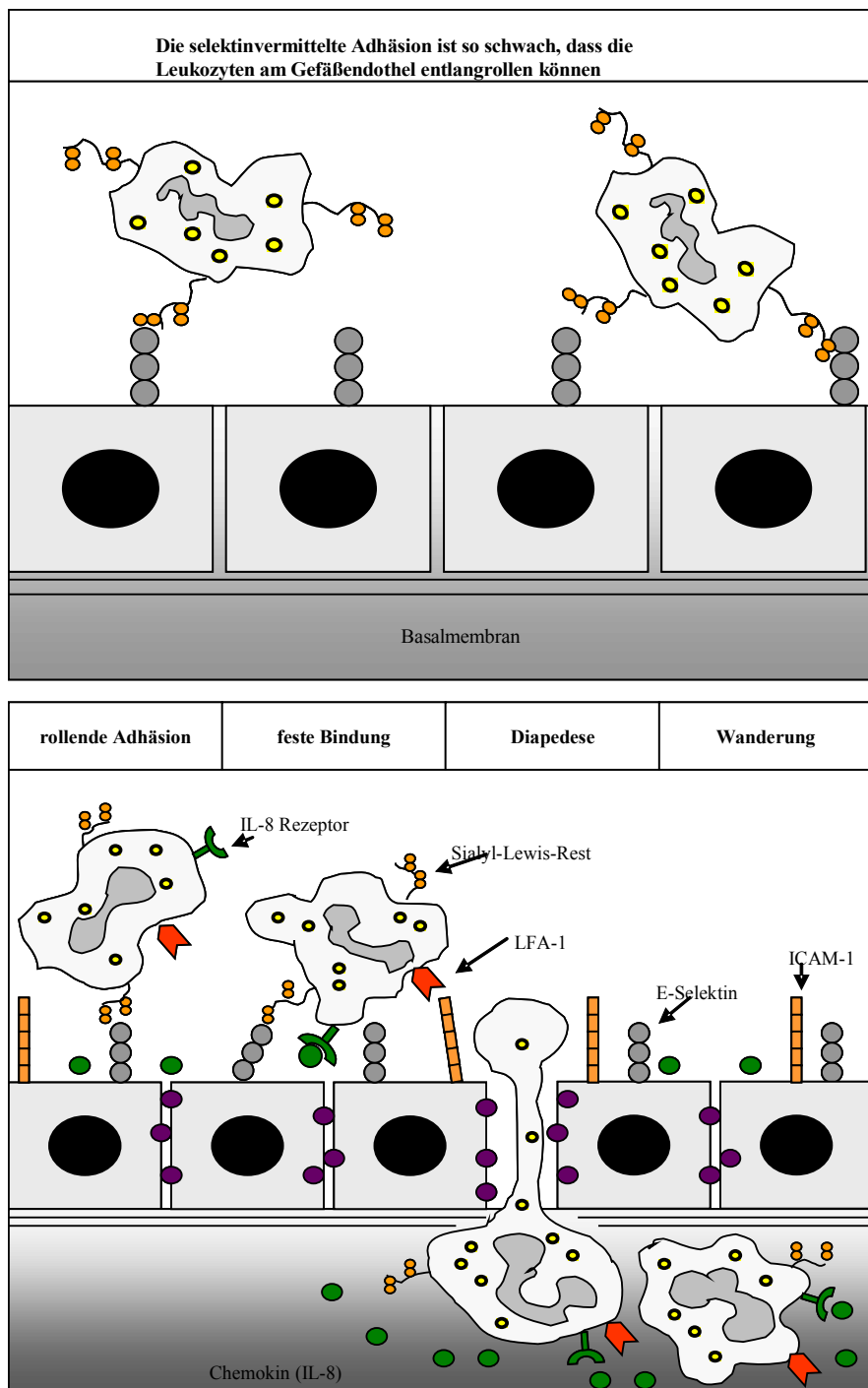


Abb. 1.4: Adhäsion und Extravasation der Leukozyten am Endothel (nach JANEWAY, TRAVERS 1997)

Normalerweise ist die Selektin-vermittelte Adhäsion der Leukozyten so schwach, dass die Leukozyten am Gefäßendothel entlang rollen können. Diese Wechselwirkung besteht aus Interaktionen zwischen den auf Endothelzellen induzierten Selektinen und den entsprechenden Kohlenhydratliganden auf den Leukozyten. In Abb. 1.4 ist dieser Vorgang für E-Selektin und seinen Liganden, den Sialyl-Lewis-Rest gezeigt. Diese Bindung ist nun nicht stark genug, um den Scherkräften des Blutstroms zu widerstehen, so dass die Zellen am Endothel entlang rollen, indem sie ständig neue Verbindungen ausbilden und alte wieder lösen. Sie ermöglicht jedoch stärkere Wechselwirkungen, die das Resultat der Induktion von ICAM-1 auf dem Endothel und der Aktivierung seiner Liganden LFA-1 und Mac-1 auf dem Leukozyten sind.

Die stabile Bindung beendet die Rollbewegung und ermöglicht es den Leukozyten, sich zwischen den Endothelzellen hindurch zu zwängen, welche die Wand der Blutgefäße bilden (Extravasation). Sowohl für diesen Vorgang als auch für die Wanderung entlang eines Gradienten von chemischen Lockstoffen sind die Leukozytenintegrine LFA-1 und Mac-1 notwendig. Auch die Adhäsion zwischen CD31-Molekülen, die sowohl auf Leukozyten als auch an der Verbindung zwischen Endothelzellen exprimiert werden, trägt wahrscheinlich zur Diapedese bei. Die Leukozyten müssen außerdem die Basalmembran durchqueren. Schließlich wandern sie entlang eines Konzentrationsgradienten von matrixassoziierten Chemokinen, welche von Zellen am Infektionsort ausgeschüttet werden. Die kleinen, löslichen Chemokine binden an Proteoglykanmoleküle der extrazellulären Matrix und an Endothelzellen, damit sie sich an einer festen Unterlage befinden, an der die Leukozyten entlang wandern können.

Neben der chemotaktischen Wirkung von IL-8 vermag es auch, seine spezifischen Zielzellen zu aktivieren. Neutrophile, die IL-8 ausgesetzt sind, werden angeregt, Sauerstoffradikale und Stickstoffmonoxid (NO) freizusetzen (respiratory burst). Des Weiteren werden sie zur Freisetzung des Inhalts ihrer Speichergranula angeregt. Mit diesen Vorgängen tragen sie zur Immunabwehr und zur lokalen Zerstörung des Gewebes bei, wie man sie in Infektionsherden pyogener Bakterien findet.

Der regulatorische Einfluss von IL-8 auf seine Zielzellen geschieht durch die Bindung an einen spezifischen Rezeptor (IL-8R).

Das menschliche IL-8-Gen hat eine Länge von 5191 Basenpaaren und enthält vier Exons, welche durch drei Introns getrennt werden. Es befindet sich auf dem Chromosom 4q12-q21. Das IL-8-Gen enthält an seiner 5'-Flanke Bindungsstellen für verschiedene Transkriptionsfaktoren, wie AP-1 (activator protein-1), AP-2 (activator protein-2), NF- $\kappa$ B

(nuclear factor-kappa B), NF-IL-6 (nuclear factor-interleukin-6, auch CAAT/enhancer-binding proteins [C/EBP] genannt), IRF-1 (IFN regulatory factor-1), HNF-1 (hepatocyte nuclear factor-1) und weitere Faktoren. Die IL-8-Gen-Expression wird initial auf der Stufe der Gentranskription reguliert. Die schnelle Induktion der IL-8-Genexpression wird wahrscheinlich vermittelt durch Transkriptionsfaktoren, die an den IL-8-Promotor binden. AP-1 und NF-IL-6 interagieren mit NF- $\kappa$ B, und diese Kooperation scheint notwendig für die optimale IL-8-Promotoraktivität in verschiedenen Zelltypen zu sein.

Der IL-8-Rezeptor (IL-8R) ist ein aus zwei Ketten bestehendes Glykoprotein (CDw128). Er wird in vielen verschiedenen Zelltypen exprimiert, auch in solchen, welche nicht auf IL-8 antworten. Die Rezeptordichte beträgt ungefähr 20.000/Zelle auf Neutrophilen, 1.040/Zelle auf Monozyten und 300/Zelle auf T-Lymphozyten. Es wurden drei verschiedene Rezeptoren für IL-8 identifiziert, zwei davon haben eine ausgeprägte Spezifität für IL-8 und gehören zu den G-Protein-gekoppelten Rezeptoren mit 7 membranspannenden Domänen. Diese beiden Rezeptoren, IL-8RA und IL-8RB, unterscheiden sich in ihrer Affinität für IL-8. Die höhere Affinität für IL-8 des IL-8RB spielt wahrscheinlich bei der Migration der Neutrophilen zum Ort der Entzündung eine Rolle, während am Ort der Entzündung bei hohen IL-8-Konzentrationen der IL-8RA eine aktivere Rolle spielen dürfte (CHUNTHARAPAI, 1995). Ein dritter Rezeptortyp wurde auf Erythrozyten gefunden, welcher nicht G-Protein-gekoppelt ist und die Membran neunmal durchtritt. Dieser Rezeptor bindet zusätzlich mehrere IL-8-homologe Faktoren, wie MGSA (melanoma growth-stimulating activity), MIP 2 (macrophage inflammatory protein 2) und NAP 2 (neutrophil activating peptide 2). Diese Faktoren sind identisch mit dem Duffy-Blutgruppenantigen.

### **1.3 Die Leber und die Akute-Phase-Reaktion**

Die Leber nimmt neben ihrer Funktion im Intermediärstoffwechsel, als Ort der Synthese des größten Teils der Plasmaproteine einschließlich der Proteine der akuten Phase, eine Schlüsselstellung im Immunsystem ein (HAWKER, 1991; MARZI, 1994).

Die Antwort des Organismus auf Gewebeschäden und Infektionen besteht aus einer koordinierten Sequenz von systemischen und lokalen metabolischen Veränderungen und inflammatorischen Reaktionen, welche zusammenfassend als Akute-Phase-Reaktion bezeichnet werden. Merkmale der systemischen Akute-Phase-Reaktion sind Fieber, Neutrophilie, Hypokalzämie und Hypoferritinämie, Veränderungen im Fettstoffwechsel, Proteinkatabolismus und eine gesteigerte Gluconeogenese, eine Aktivierung des

Komplement- und Gerinnungssystems und die Induktion der Akute-Phase-Proteine (KUSHNER, 1982 ; KOJ, 1985).

### **1.3.1 Physiologische Leberfunktion und Morphologie**

Den morphologisch und funktionell zu unterscheidenden Hepatozyten oder parenchymatösen Zellen und den verschiedenen Nichtparenchymzelltypen kommen im Rahmen des Intermediärstoffwechsels wie auch bei der systemischen Inflammation verschiedene Aufgaben zu.

Die quantitativ bedeutsamste Zellpopulation stellen mit einem Anteil von 94 % am Zellvolumen und 64 % der Zellzahl die Hepatozyten dar. Sie erfüllen neben Synthese- und Stoffwechsellleistungen wichtige Exkretionsleistungen, z. B. im Rahmen der Konjugation und Exkretion von Steroidhormonen oder Bilirubin. Zu den wesentlichen Stoffwechsellleistungen gehören neben Protein- und Aminosäurestoffwechsel die Harnstoffbiosynthese, Gluconeogenese und die Metabolisierung von Xenobiotica über das Cytochrom-P450-System (JUNGERMANN, 1989). Viele der Schlüsselenzyme der genannten Stoffwechselwege sind transkriptional reguliert und werden z. B. bei Schock oder Sepsis im Rahmen der Reprogrammierung der Genexpression deutlich in ihrer Expression moduliert.

Den zahlenmäßig bedeutsamsten Anteil der nicht-parenchymatösen Zellen stellen die sinusoidalen Endothelzellen dar. Es handelt sich bei ihnen um einen hochspezialisierten Endothelverband, der sich wesentlich von den Endothelzellen anderer Gefäßabschnitte unterscheidet. Spezifisch sind insbesondere die „schaumlöffelartig“ angeordneten Fenestrae („sieve plates“), die die Filtration von Makromolekülen in den Disse'schen Raum erlauben, sowie die Ausstattung mit einer Reihe von Oberflächenrezeptoren, die z. B. der Clearance von Zellmatrixproteinen dienen (SMEDSRØD, 1985). Eine weitere wichtige Zellpopulation repräsentieren die Makrophagen oder Kupfferzellen der Leber, welche den größten ortsständigen Makrophagenpool des Organismus bilden (WAKE, 1989). Die hohe Makrophagendichte stellt wahrscheinlich einen wichtigen Filtermechanismus zur Clearance von aus dem Magen-Darm-Trakt eingeschwemmten bakteriellen Produkten dar. Als antigenpräsentierende Zellen setzen sie im Prozess der Phagozytose wichtige kostimulatorische Moleküle (insbesondere Zytokine) aber auch vasoaktive Substanzen frei (WAKE, 1989; DECKER, 1990; McCUSKEY, 1993). Ferner ist eine Aktivierung der Kupfferzellen durch peripher gebildete proinflammatorische Mediatoren möglich.

Etwa 10 % der Nichtparenchymzellen können einer mesenchymalen Zelllinie zugeordnet werden, welche als morphologisches Charakteristikum eine hohe Dichte perinukleärer Fetttröpfchen aufweisen. Diese als hepatische Sternzellen, Fettspeicher- oder Itozellen bezeichneten Perizyten liegen der abluminalen Oberfläche der Endothelzellen netzartig auf (WAKE, 1980; 1995). Ebenfalls im Sinusoid lokalisiert sind die Pit-Zellen, bei denen es sich wahrscheinlich um große granulierten Lymphozyten handelt (WISSE, 1976). Des Weiteren werden auch Bindegewebszellen wie Fibroblasten und Cholangiozyten den nicht-parenchymatösen Zellen zugeordnet. Sie spielen jedoch nach heutigem Erkenntnisstand keine nennenswerte Rolle bei der Durchblutungsregulation der Leber.

### **1.3.2 Pathophysiologie des Leberversagens**

Im Rahmen von schweren Entzündungsreaktionen lässt sich bei 20–25 % der Patienten eine begleitende Störung der Leberfunktion beobachten. Der klassische Laborparameter hierfür – der Anstieg des Bilirubins – tritt in der Regel aber erst nach Funktionsstörungen anderer Organe auf. Durch neue sensitive Nachweismethoden, wie die Messung der Plasmaverschwinderate von Indozyaningrün, zeigte sich jedoch, dass die hepatische Dysfunktion ein sehr frühes Ereignis darstellt. Dieses sehr frühe Einsetzen der Leberfunktionsstörung mit der vor allem in den Kupfferzellen vermehrten Freisetzung von Zytokinen gab Anlass zur Hypothese, das SIRS als Lebererkrankung bzw. die Leber als Motor des Multiorganversagens zu bezeichnen (LENZ, 2006).

Ursächlich für die Dysfunktion sind einerseits Veränderungen in der Makrozirkulation und der Mikrozirkulation, andererseits auch direkte Einwirkungen verschiedener Substanzen, welche sowohl zu einer direkten Leberzellschädigung führen können, als auch Funktionsveränderungen zur Folge haben können. Es ist bekannt, dass es im Rahmen einer Sepsis durch extrahepatische Einflüsse zu Veränderungen im Substratstoffwechsel ohne direkte Leberzellschädigung kommt (DAHN, 1995). Veränderungen des Fettstoffwechsels werden allerdings auch durch eine direkte Schädigung verursacht, welche sich nach Inkubation mit Endotoxinen und Zytokinen beobachten ließen (VARA, 1994). Eine cholestatische Rolle von Endotoxin wurde vor 30 Jahren erstmals nachgewiesen. Aus neueren Untersuchungen geht hervor, dass diese auf einer durch Endotoxin aber auch Exotoxin induzierten Freisetzung proinflammatorischer Zytokine beruht (TRAUNER, 1999). Die Zytokin-bedingten Leberveränderungen sind jedoch nicht an eine Sepsis gebunden, auch alle anderen Auslöser einer systemischen inflammatorischen Reaktion können zu Dysfunktionen

der Leber führen (SHERON, 1990). Daneben spielen ischämische Ereignisse sowie Medikamente sicherlich eine additive Rolle in der Entwicklung einer Leberschädigung.

### **1.3.3 Akute-Phase-Reaktion**

Im Rahmen einer Aktivierung des Immunsystems kommt es zur Sekretion spezifischer Mediatoren, welche über den Blutweg in die Leber gelangen und dort eine Immunreaktion der akuten Phase bewirken, im Rahmen derer es zu einem schnellen Anstieg der Konzentrationen einer Reihe von Plasmaproteinen, den sogenannten Akute-Phase-Proteinen, kommt. Ferner entsteht im Gegenzug eine Abnahme der Konzentration bestimmter Plasmaproteine, wie z. B. Albumin, welche daher auch als negative Akute-Phase-Proteine bezeichnet werden. Die Proteine der akuten Phase haben vielfältige Funktionen, wie hämostatische Eigenschaften (z. B. Fibrinogen), antimikrobielle und phagozytosefördernde Eigenschaften (z. B. Komplement, C-reaktives Protein), antithrombotische Eigenschaften ( $\alpha_1$ -acid-Glycoprotein) und antiproteolytische Funktionen (z. B.  $\alpha_2$ -Makroglobulin,  $\alpha_1$ -Antitrypsin).

Die Akute-Phase-Proteine können in zwei Gruppen eingeteilt werden. Zur Gruppe I gehören Proteine, die durch IL-1 und TNF- $\alpha$  induziert werden. Proteine dieser Gruppe sind SAA (Serum Amyloid A), CRP (C-reaktives Protein), Komplementfaktoren B und C3 und  $\alpha_1$ -acid-Glycoprotein. Die Synthese der zur Gruppe II gehörenden Proteine wird durch Zytokine der IL-6-Familie, welche mit dem gp130-Rezeptor assoziiert sind, induziert. Vertreter der Gruppe II sind Fibrinogen, Haptoglobin,  $\alpha_1$ -Antichymotrypsin und  $\alpha_1$ -Antitrypsin. Die Zytokine der IL-6-Familie wirken synergistisch mit den Zytokinen der IL-1-Familie bei der Induktion der Synthese von Proteinen der Gruppe I zusammen, umgekehrt haben allerdings Zytokine der IL-1-Familie keinen Einfluss auf die Synthese von Proteinen der Gruppe II (BAUMANN, GAULDIE, 1994).

## **1.4 Die Stressantwort des Organismus**

Angst des Patienten, Schmerzen, Blutverlust, Hypotonie, Toxine und andere Faktoren, welche die Homöostase des Individuums beeinflussen, führen zu einer Reaktion, die als perioperative Stressantwort bezeichnet wird. Die schädlichen Reize werden über nervale Strukturen an das zentrale Nervensystem (ZNS) und Hormondrüsen weitergeleitet. Ziel ist es, Schaden abzuwenden und die ursprüngliche Integrität und Funktion des Organismus wieder herzustellen. Die Erfolgsorgane sind das sympathoadrenerge System mit seinen Transmittern



Adrenalin und Noradrenalin, die Neurohypophyse mit dem antidiuretischen Hormon (ADH), die Adenohypophysen-Nebennierenrinden-Achse mit dem adrenocorticotropen Hormon (ACTH) und Cortisol, sowie die Schilddrüse mit Thyroxin und Trijodthyronin (ADAMS, 1991).

Die wissenschaftliche Untersuchung von Reaktionen, welche im weitesten Sinne nach einer Verletzung eines Organismus auftreten, begann im engen zeitlichen Zusammenhang mit Kriegsereignissen. Cannon definierte zu Beginn des ersten Weltkrieges seine *emergency theory*. 1920 fand Bürger Überträgerstoffe, die durch das Trauma freigesetzt werden und dann den Proteinabbau in Gang setzen. Im Jahre 1932 definierte Cuthbertson zwei verschiedene Phasen, welche traumatischen Ereignissen folgen, die Ebb-Phase und die Flow-Phase. Die erste ist gekennzeichnet als eine kurze Initialphase, welche auf das Trauma folgt, ein hypodynamer Zustand mit reduzierter Stoffwechselaktivität, vermindertem Herz-Zeit-Volumen (HZV) und gebremstem Ablauf weiterer physiologischer Prozesse. In der zweiten Phase erfolgt eine gesteigerte Stoffwechselaktivität und eine Zunahme des HZV; es resultieren Körpersubstanzverluste aufgrund von Proteindefiziten. Der Begriff „Postaggressionssyndrom“ wurde erstmals von Moore 1950 eingeführt. Er erweiterte die Abschnitte von zwei auf vier Phasen, die *injury*-Phase, die *turning point*-Phase, die *muscular strength*-Phase und die *fat gain*-Phase (nach ALTEMEYER, 1986). Nach Henry lassen sich zwei Phasen der Stressantwort unterscheiden: Die akute und aktive Reaktion mit einer zunehmenden Konzentration von Katecholaminen und ADH dient vor allem der Aufrechterhaltung der Hämodynamik (*fight or flight*-Reaktion), die subakute Antwort beruht maßgeblich auf einer Aktivierung der Adenohypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HENRY, 1980, nach ADAMS, 1991). Hieraus resultieren eine Salz- und Wasserretention sowie ein Überwiegen des katabolen Stoffwechsels (gegenüber dem anabolen). Das sympathische Nervensystem wird unter anderem über den Hypothalamus aktiviert, und diese Aktivierung führt zu Tachykardie und Hypertonie.

Einschränkend muss gesagt werden, dass bei internistischen Patienten mit Sepsis kein klarer Ablauf der einzelnen Phasen erkennbar ist; oft kommen Flow-Phase und Ebb-Phase wiederholt und abwechselnd vor (CERRA, 1987).

Der Terminus „Postaggressionssyndrom“, welcher sich eher auf die Stoffwechselforgänge im Rahmen der Abwehrreaktion des Organismus bezieht, wurde 1992 durch den Begriff SIRS abgelöst, definiert durch die *Members of the American College of Chest Physicians Consensus Conference*. Dieser Begriff bezieht einerseits die modernen molekularbiologischen Erkenntnisse mit ein und berücksichtigt andererseits, dass Reaktionen des Organismus auf einen

Stimulus nahezu einförmig zu verlaufen scheinen, unabhängig davon, ob es sich um Trauma, Infektion oder beispielsweise um eine Pankreatitis handelt.

## 1.5 SIRS und Sepsis

Der Begriff „Sepsis“ stammt aus dem Griechischen und bedeutet Fäulnis. Dieser Begriff wurde von Hippokrates (ca. 460-370 v. Chr.) eingeführt. Ibn Sina (979-1037) beobachtete, dass die Fäulnis des Blutes mit Fieber einhergeht. Der Begriff wurde bis in das 19. Jahrhundert in dieser Form angewendet, jedoch gab es wenig pathophysiologische Überlegungen über die Ursachen der Sepsis. Diese kamen erst mit den grundlegenden Erkenntnissen zu Hygiene und Mikrobiologie, welche mit Namen wie Semmelweis und Pasteur verknüpft sind. Die erste Beschreibung einer Escherichia coli-Sepsis erfolgte 1909 durch Jakob. Es war Hugo Schottmüller, welcher den Grundstein für eine moderne Sepsisdefinition im Jahre 1914 legte. Er beschrieb die Sepsis als einen Herd innerhalb des Körpers, von dem kontinuierlich oder periodisch pathogene Bakterien in den Blutkreislauf ausgeschüttet werden.

Im Jahre 1989 veröffentlichte Bone eine moderne Definition der Sepsis. Er schrieb: „Sepsis ist definiert als eine Invasion von Mikroorganismen und/oder ihrer Toxine in den Blutstrom zusammen mit der Reaktion des Organismus auf diese Invasion“ (BONE, 1989). Diese Definition wurde 1991 von einer Konsensus-Konferenz des *American College of Chest Physicians* und der *Society of Critical Care Medicine* weitergeführt. Zunächst wurden dabei einige medizinische Begriffe neu eingeführt bzw. neu definiert:

<b>Begriff</b>	<b>Definition</b>
Bakteriämie	Vorkommen lebensfähiger Bakterien im Blut
Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS)	Generalisierte hyperinflammatorische Reaktion verschiedener Ursachen (z. B. Infektion, Verbrennung, Trauma)
Sepsis	SIRS hervorgerufen durch eine Infektion
Schwere Sepsis	Sepsis mit Organdysfunktionen
Septischer Schock	Sepsis mit Schock

Nach dieser Konsensuskonferenz des *American College of Chest Physicians / Society of Critical Care Medicine* (ACCP/SCCM) im Jahre 1991 wurde ein Kriterienkatalog für die Diagnose der Sepsis sowie des *Systemic Inflammatory Response Syndrome* (SIRS) erstellt. Diese wurden 1995 von der Arbeitsgruppe Sepsis der „European Society of Intensive Care Medicine“ modifiziert. Im Jahre 2005 wurden schließlich die S-2-Leitlinien der Deutschen Sepsis-Gesellschaft e.V. (DSG) und der Deutschen Interdisziplinären Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin (DIVI) zur Diagnose und Therapie der Sepsis erstellt. Die Diagnose der Sepsis und des SIRS wird danach anhand der folgenden Kriterien gestellt:

#### I Nachweis der Infektion

Diagnose einer Infektion über den mikrobiologischen Nachweis oder durch klinische Kriterien

#### II Systemic inflammatory host response (SIRS) (mind. 2 Kriterien)

- Fieber ( $\geq 38\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) oder Hypothermie ( $\leq 36\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) bestätigt durch eine rektale oder intravasale oder -vesikale Messung
- Tachykardie: Herzfrequenz  $\geq 90/\text{min}$
- Tachypnoe (Frequenz  $\geq 20/\text{min}$ ) o. Hyperventilation ( $\text{PaCO}_2 \leq 4,3\text{ kPa} / \leq 33\text{ mmHg}$ )
- Leukozytose ( $\geq 12000/\text{mm}^3$ ) oder Leukopenie ( $\leq 4000/\text{mm}^3$ ) oder  $\geq 10\%$  unreife Neutrophile im Differentialblutbild

#### III Akute Organdysfunktion (mind. 1 Kriterium)

- Akute Enzephalopathie: eingeschränkte Vigilanz, Desorientiertheit, Unruhe, Delirium.
- Relative oder absolute Thrombozytopenie: Abfall der Thrombozyten um mehr als 30 % innerhalb von 24 Stunden oder Thrombozytenzahl  $\leq 100.000/\text{mm}^3$ . Eine Thrombozytopenie durch akute Blutung oder immunologische Ursachen muss ausgeschlossen sein.
- Arterielle Hypoxämie:  $\text{PaO}_2 \leq 10\text{ kPa}$  ( $\leq 75\text{ mmHg}$ ) unter Raumlufte oder ein  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ -Verhältnis von  $\leq 33\text{ kPa}$  ( $\leq 250\text{ mmHg}$ ) unter Sauerstoffapplikation. Eine manifeste Herz- oder Lungenerkrankung muss als Ursache der Hypoxämie ausgeschlossen sein.
- Renale Dysfunktion: Eine Diurese von  $\leq 0,5\text{ ml/kg/h}$  für wenigstens 2 Stunden trotz ausreichender Volumensubstitution und/oder ein Anstieg des Serumkreatinins  $> 2\times$  oberhalb des lokal üblichen Referenzbereiches.

- Metabolische Azidose: Base Excess  $\leq -5$  mmol/l oder eine Laktatkonzentration  $> 1,5\times$  oberhalb des lokal üblichen Referenzbereiches.

Sepsis: Kriterien I und II

Schwere Sepsis: Kriterien I, II und III

Septischer Schock: Kriterien I und II sowie für wenigstens 1 Stunde ein systolischer arterieller Blutdruck  $\leq 90$  mmHg bzw. ein mittlerer arterieller Blutdruck  $\leq 65$  mmHg oder notwendiger Vasopressoreinsatz, um den systolischen arteriellen Blutdruck  $\geq 90$  mmHg oder den arteriellen Mitteldruck  $\geq 65$  mmHg zu halten. Die Hypotonie besteht trotz adäquater Volumengabe und ist nicht durch andere Ursachen zu erklären.

(aus: S-2 Leitlinien der Deutschen Sepsis-Gesellschaft e.V. (DSG) und der Deutschen Interdisziplinären Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin (DIVI); REINHART, 2006)

Der Nachweis einer Mortalitätsreduktion durch eine medikamentöse Sepsistherapie wurde erstmals 2001 in einer großen internationalen Studie erbracht (PROWESS-Studie von Bernard et al.). 2003 stellten Levy et al. das PIRO-Konzept vor (PIRO = Predisposition, Insult Infection, Response und Organ Dysfunction). Danach wird die Sepsis anhand von vier Kriterien klassifiziert: nach Prädispositionsbedingungen, der Natur der Erkrankung, der Schwere der Wirtsreaktion und dem Grad der gleichzeitigen Organdysfunktion.

Die Sepsis ist als eine systemische inflammatorische Antwort (SIRS) auf eine vermutete oder nachgewiesene Infektionsquelle definiert worden. Der Begriff schließt auch eine überschießende Aktivierung von primär protektiven Defensivsystemen des septischen Patienten im Sinne einer *host defence failure disease* mit ein. Die schwere Sepsis schließt die Sepsis-Kriterien sowie Zeichen der Organdysfunktion, der Hypoperfusion oder der septisch induzierten Hypotension ein. Der septische Schock beinhaltet Zeichen von Sepsis und arterieller Hypotension trotz ausreichender Volumensubstitution, begleitet von verminderter Organperfusion oder Organdysfunktion (LEVY, 2003).

Das Multiorganversagen (MOV) bezeichnet ein simultanes oder sequentielles Versagen von zwei oder mehreren vitalen Organsystemen. Ein in letzter Zeit häufig verwendeter Begriff ist der des *Multiple Organ Dysfunction Syndrome* (MODS), welcher zum Ausdruck bringen soll, dass es sich um ein dynamisches und nicht um ein statisches Geschehen handelt.

Zur Schweregradklassifizierung und Verlaufsbeurteilung einer Sepsis und des septisch bedingten Multiorganfunktionssyndroms wurden verschiedene Score-Systeme in die klinische Praxis eingeführt. Von den zahlreichen Scores bieten sich aus Praktikabilitätsgründen v. a. der Sepsisscore nach Elebute und Stoner sowie die

Schweregrade-Erkrankung-Scores APACHE-II und SOFA an. Vorteile dieser Scores sind die einfachen Parameter, welcher sie sich bedienen.

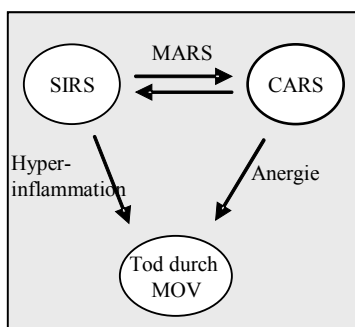
Auf die pathophysiologischen Vorgänge bei SIRS/Sepsis soll und kann aufgrund ihrer Komplexität hier nur kurz eingegangen werden. Seitens der endokrinen Vorgänge findet sich in der Phase 1 nach Moore (siehe 1.3) eine absolute Dominanz der Katecholamine (mit hohen Spiegel an Adrenalin und Noradrenalin), begleitet von erhöhten Serumspiegeln von Glucagon, Cortisol und Wachstumshormon. Folge ist, neben Vasokonstriktion und Erhöhung des HZV seitens des Stoffwechsels, eine ausgeprägte Suppression der Insulinsekretion; es kommt zu einer Phase des absoluten Insulinmangels. In Phase 2 ist Insulin wieder stimulierbar, wird jedoch inadäquat sezerniert. Phase 3 und 4 sind von einer Rückkehr der Hormone in den Normbereich gekennzeichnet, es erfolgt die Umschaltung von der Katabolie auf die Anabolie.

Wenn man die molekularbiologischen Vorgänge betrachtet, steht die Aktivierung körpereigener plasmatischer (Komplement, Gerinnung, Mediatoren) und zellulärer (Makrophagen, Mastzellen, Granulozyten, Thrombozyten) Systeme mit überschießender Reaktion im Vordergrund. Es kommt zu Störungen der Gefäßpermeabilität, Erhöhung der zellulären Adhäsion, kaskadenartiger Aktivierung verschiedener weiterer Mediatorsysteme mit Konzentrationsveränderungen von Bradykinin, Histamin, Eikosanoiden, Komplementfraktionen, plättchenaktivierendem Faktor mit Thrombenbildung und Gerinnungsfaktoren. Die oben genannten Veränderungen sind Folge erhöhter Serumkonzentrationen proinflammatorischer Zytokine, hauptsächlich bedingt durch TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 und IL-8. Die Syntheserate von TNF- $\alpha$  ist von der genetischen Disposition des Patienten abhängig. Dieser TNF-Polymorphismus könnte also eine Erklärung für die unterschiedliche Ausprägung einer Sepsis sein (STÜBER, 1996). Im Rahmen der Sepsis kommt es zudem zu einer ausgeprägten Störung der Vasomotorik und der Mikrozirkulation mit Abfall des systemischen vaskulären Widerstandes und Störungen der Blutflussumverteilung sowohl zwischen den Organen als auch innerhalb der Organe. Ursächlich ist die Aktivierung der induzierbaren Stickstoffmonoxid (NO)-Synthetase (iNOS) durch Endotoxin, IL-1, IL-6 und TNF- $\alpha$ . Neben NO scheinen noch weitere Faktoren, wie erhöhte Plasmakonzentrationen an atrialem natriuretischem Faktor (ANF), an der Vasodilatation im Rahmen einer Sepsis beteiligt zu sein. Es kommt zudem zu Änderungen in der Expression spezifischer Oberflächenmoleküle auf den beteiligten Zellen; zu nennen wären leukozytäre Integrine (CD11/CD18) und endotheliale Adhäsionsmoleküle, wie E- und P-

Selektine auf der Endothelzelle und L-Selektine auf Granulozyten, sowie ICAM-1 und ICAM-2 auf den Endothelzellen und VCAM-1 auf den Lymphozyten (HOTCHKISS, 2003). Im Rahmen einer Sepsis findet sich außerdem eine Reduktion des Protein-C- und AT-III-Spiegels im Plasma und, damit verbunden, eine Störung der Fibrinolyse mit konsekutiver Thrombenbildung in der Mikrozirkulation. Nach Fourrier korrelieren die in der Sepsis erniedrigten AT-III- und Protein-C-Spiegel bei Patienten mit septischem Schock mit einer schlechteren Prognose (FOURRIER, 1992). Zwei große Studien wiesen eine signifikante Reduktion der Mortalität durch Substitution von aktiviertem Protein C bei septischen Patienten nach (PROWESS-, ENHANCE-Studie) (BERNARD, 2001). Gaben von TNF- $\alpha$ -Antikörperfragmenten (RAMSES-Studie) und TNF- $\alpha$ -Antikörpern (MONARCS-Studie) zeigten keine signifikante Beeinflussung der Mortalität, ebenso die Substitution von AT III (Kybersept-Studie).

Nach einer initialen proinflammatorischen Phase kommt es zu einer kompensatorischen antiinflammatorischen Antwort, die überschießend zur Immunsuppression bis zur Anergie führen kann. Der Begriff *compensatory antiinflammatory response syndrome* (CARS) wurde von Bone eingeführt. Gekennzeichnet wird es durch antiinflammatorische Mediatoren wie IL-4, IL-10, IL-13, IL-Rezeptorantagonisten sowie Mediatoren, die sowohl proinflammatorisch wie auch antiinflammatorisch wirken können, wie z. B. IL-6 und IL-8. Klinisch manifestiert sich das CARS als Anergie und erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Infektionen (BONE, 1996).

Die Immunparalyse ist laborchemisch gekennzeichnet durch eine verminderte monozytäre HLA-DR-Expression (< 30 %) sowie eine reduzierte Endotoxin-induzierte TNF- $\alpha$ - und IL-6-Sekretion (OSUCHOWSKI, 2006). Der wechselnde Ablauf zwischen SIRS und CARS wird als *mixed antagonistic response syndrome* (MARS) bezeichnet.



**Abb. 1.5: Wechselnder Ablauf zwischen SIRS und CARS**

## 1.6 Anästhetika und Immunsystem

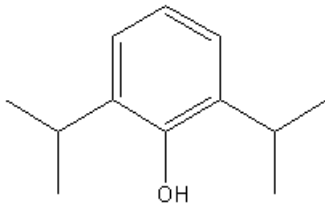
Schwere Krankheitsbilder wie Sepsis und SIRS verlangen in den meisten Fällen eine intensive Therapie mit kontrollierter Beatmung, invasiver Überwachung der Vitalfunktionen, hochdosierter Katecholamintherapie, kinetischer Therapie usw. Im Zuge dessen ist es notwendig, den Patienten gegen diese ausgeprägte Stresssituation abzuschirmen. Zur Sedierung werden hierzu hauptsächlich Propofol und Midazolam meist in Kombination mit einem Opiat und bei bestimmten Krankheitsbildern Ketamin eingesetzt. Hinsichtlich der komplexen Regulation des Immunsystems wird bereits seit einiger Zeit diskutiert, ob diese Substanzen einen Einfluss auf den Verlauf der inflammatorischen Reaktion haben könnten und somit auch auf die Prognose des Krankheitsverlaufes.

Es wurde in früheren Studien nachgewiesen, dass bestimmte Anästhetika Einfluss auf Oberflächenrezeptordichte und die Zytokinausschüttung immunkompetenter Zellen haben. Es hat sich gezeigt, dass die TNF- $\alpha$ -Ausschüttung nach Stimulation mit LPS im Vollblutansatz durch Ketamin und Thiopental gehemmt und durch Propofol gesteigert wurde. Ketamin senkte zusätzlich die Konzentration von IL-1 $\beta$ . Die Ausschüttung von IL-1 $\alpha$  wurde von Propofol, Thiopental und Etomidat gehemmt, die Ausschüttung von IL-10 aber gleichzeitig gesteigert. Die Expressionsdichte von CD-14 auf mononukleären Zellen des peripheren Bluts (PBMC) war in der Anwesenheit von Thiopental, Etomidat und Propofol erniedrigt, während die Expressionsdichte von HLA-DR unbeeinflusst blieb (LARSEN, 1998). Ferner wurde im Vollblutansatz gezeigt, dass sowohl S(+)-Ketamin als auch R(-)-Ketamin die SEB-induzierte Produktion von IL-6, IL-8 und TNF- $\alpha$  hemmen (KAWASAKI, 2001).

Bezüglich der Anästhetika-induzierten Beeinflussung der IL-8-Sekretion im Vollblutansatz durch Stimulation mit LPS sowie TNF- $\alpha$  gibt es bisher nur wenige Studien, zur Änderung der TNF- $\alpha$ - sowie IL-6-stimulierten IL-8-Synthese in der HepG2-Zellkultur liegen keine dem Autor bekannten Studien vor.

Im Folgenden wird kurz auf die in dieser Arbeit verwendeten Anästhetika eingegangen.

### 1.6.1 Propofol

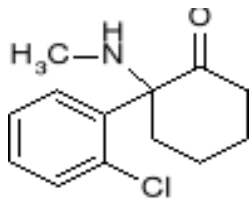


**Abb. 1.6: Strukturformel von Propofol**

Das Anästhetikum Propofol (2,6-Diisopropylphenol) ist ein rasch und kurz wirkendes Hypnotikum ohne analgetische Wirkung. Es wird hauptsächlich zur Narkoseeinleitung verwendet aber auch zur Supplementierung von Opioiden per Infusion im Rahmen einer totalen intravenösen Anästhesie. Wegen ihrer Wasserunlöslichkeit findet die Substanz Anwendung in Form einer isotonen Öl-in-Wasser Emulsion. In der üblichen Dosierung von 2 bis 2,5 mg/kg tritt innerhalb von 25–40 s ein Bewusstseinsverlust ein, der 4–8 min anhält. Die Auswirkungen auf die Herzfrequenz sind nicht sehr ausgeprägt; es wird meist eine leichte Frequenzsteigerung beobachtet, aber es wurden auch schon bei Patienten, die unter einer Erhaltungsdosis von  $\beta$ -Blockern standen, ausgeprägte Bradykardien beobachtet. Deutlicher ist der Blutdruckabfall bei Gabe von Propofol, im Mittel 10–20 mmHg systolisch bzw. 5–15 mmHg diastolisch. Bei Koronarkranken und alten Patienten ist der Blutdruckabfall ausgeprägter. Er beruht wahrscheinlich auf einer negativ inotropen Wirkung sowie einer Vasodilatation. Ebenfalls Folge der negativ inotropen Wirkung ist ein Abfall des Herzzeitvolumens. Leber-, Nieren- und Nebennieren-Funktionen werden nach bisherigen Kenntnissen nicht beeinflusst. Die Halbwertszeit der initialen Verteilungsphase beträgt etwa 2,5 min, die Eliminationshalbwertszeit etwa 55 min. Die Substanz wird im Plasma zu 98 % an Proteine gebunden. In der Leber wird Propofol zum großen Teil konjugiert, die Metaboliten hauptsächlich renal ausgeschieden.



## 1.6.2 Ketamin



**Abb. 1.7: Strukturformel von Ketamin**

Ketamin (2-[2-Chlorphenyl]-2-methylaminocyclohexanon-hydrochlorid) ist ein den Halluzinogenen nahestehendes Phenyklidinderivat. Es wird in der Klinik hauptsächlich als Monoanästhetikum eingesetzt, nur sehr selten zur Narkoseeinleitung. Ketamin ist wasserlöslich und enthält im herkömmlichen Präparat die beiden Enantiomere (S)- und (R)-Ketamin. Das stärker wirkende (S)-Ketamin steht auch als Reinsubstanz zur Verfügung. Im Zentralen Nervensystem bewirkt Ketamin eine nicht kompetitive Hemmung des exzitatorischen Neurotransmitters Glutamat. Wirkort ist hierbei der N-Methyl-D-Aspartat-(NMDA)-Rezeptor, ein Subtyp des Glutamatrezeptors. Zudem wirkt Ketamin noch agonistisch am Opioidrezeptorkomplex und hemmend auf den zentralen Katecholamintransport. Die Substanz erzeugt eine dissoziative Anästhesie, einen kataleptischen Zustand, in dem der Patient von der Umgebung abgekoppelt zu sein scheint, ohne jedoch in einen normalen Schlafzustand überzugehen. Miteinhergehend sind eine ausgeprägte Analgesie und Amnesie. Der Bewusstseinsverlust stellt sich 20–60 s nach intravenöser Injektion ein. Die Dauer einer Ketaminnarkose beträgt bei einer Einzeldosis von 2 mg/kg etwa 10–15 min. Als einzige Substanz unter den intravenösen Anästhetika hat Ketamin eine Stimulation des Herz-Kreislauf-Systems zur Folge. Die Herzfrequenz und der mittlere arterielle Druck nehmen in den ersten 2–4 min nach Substanzgabe um 37 bzw. 30 % zu und normalisieren sich in den folgenden 10–20 min wieder. Der Schlagvolumenindex nimmt um 24 % ab, das Herzzeitvolumen steigt leicht an oder bleibt unbeeinflusst. Durch Zunahme der Druck-Volumen-Arbeit des Herzens steigen der myokardiale Sauerstoffverbrauch und die Koronardurchblutung um bis zu 70 % an. Als Ursachen werden ein kokainartiger Effekt, eine zentrale Sympathikusaktivierung und eine Beeinträchtigung der Barorezeptoren diskutiert, wobei die Sympathikusaktivierung jedoch der Hauptmechanismus zu sein scheint. Die Wirkung auf das respiratorische System stellt sich in einer Zunahme der Atemfrequenz für etwa 2–3 min dar. Je nach Dosis, Injektionsgeschwindigkeit und Prämedikation kann Ketamin auch einen Atemstillstand hervorrufen. Ketamin wirkt auf die

Sekretion der Speicheldrüsen und die Drüsen des Tracheobronchialsystems stark anregend und sollte daher nur in Kombination mit Atropin verabreicht werden. Der Skelettmuskeltonus wird durch zentrale Mechanismen erhöht, die Leber- und Nierenfunktionen werden jedoch nicht beeinträchtigt. Im Gegensatz zu Propofol ist die Proteinbindung im Plasma gering, sie liegt bei etwa 12 %. Aufgrund seiner hohen Lipidlöslichkeit dringt Ketamin sehr schnell in das Gehirn ein, unterliegt aber deshalb auch einer raschen Umverteilung in stark durchblutete Gewebe, wo sich 10 min nach Injektion 70 % der Substanz finden. Die Verteilungshalbwertszeit liegt bei 11–16 min, die Eliminationshalbwertszeit bei 2–4 h. Die in der Leber konjugierten Metaboliten werden über Nieren und Stuhl ausgeschieden (LARSEN, 1999).

## **1.7 Fragestellung**

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Beeinflussung der Interleukin-8-Sekretion durch zwei gebräuchliche intravenöse Anästhetika zu beleuchten. Als Versuchsmodell wird einerseits die humane Hepatomazelllinie HepG2 als Modellsystem für Hepatozyten betrachtet, andererseits das komplexe Organ Blut in Form eines Vollblutansatzes. Als Stimulans zur Induktion einer Interleukin-8-Freisetzung werden die im Organismus zentral an inflammatorischen Reaktionen beteiligten Substanzen Lipopolysaccharid, Tumornekrosefaktor- $\alpha$  sowie Interleukin-6 verwendet.

Es soll gezeigt werden, inwieweit die Applikation von Anästhetika, welche gerade im Rahmen der Analgosedierung kritisch Kranker prolongiert eingesetzt werden, einen Baustein der systemischen inflammatorischen Reaktion – die IL-8-Sekretion – beeinflusst. Dies wurde bezogen auf den Vollblutansatz bisher in nur wenigen Studien untersucht. Über die HepG2-Zellkultur gibt es keine dem Autor bekannten Studien, welche sich mit der Änderung der IL-8-Sekretion beschäftigen. Die Synthese chemotaktischer Chemokine, zu denen IL-8 gehört, stellt einen für das Funktionieren der Abwehrreaktion zwingend erforderlichen Schritt dar. Ohne die von Chemokinen ausgelöste Zellwanderung könnte das Immunsystem nicht funktionieren.

Die Übertragbarkeit in den klinischen Alltag ist aufgrund des überaus komplexen Zusammenspiels der einzelnen Komponenten des menschlichen Körpers natürlich schwierig bis unmöglich. Es kann in Studien wie dieser nur ein isolierter Blick auf einen Baustein der Abwehrreaktion erfolgen.

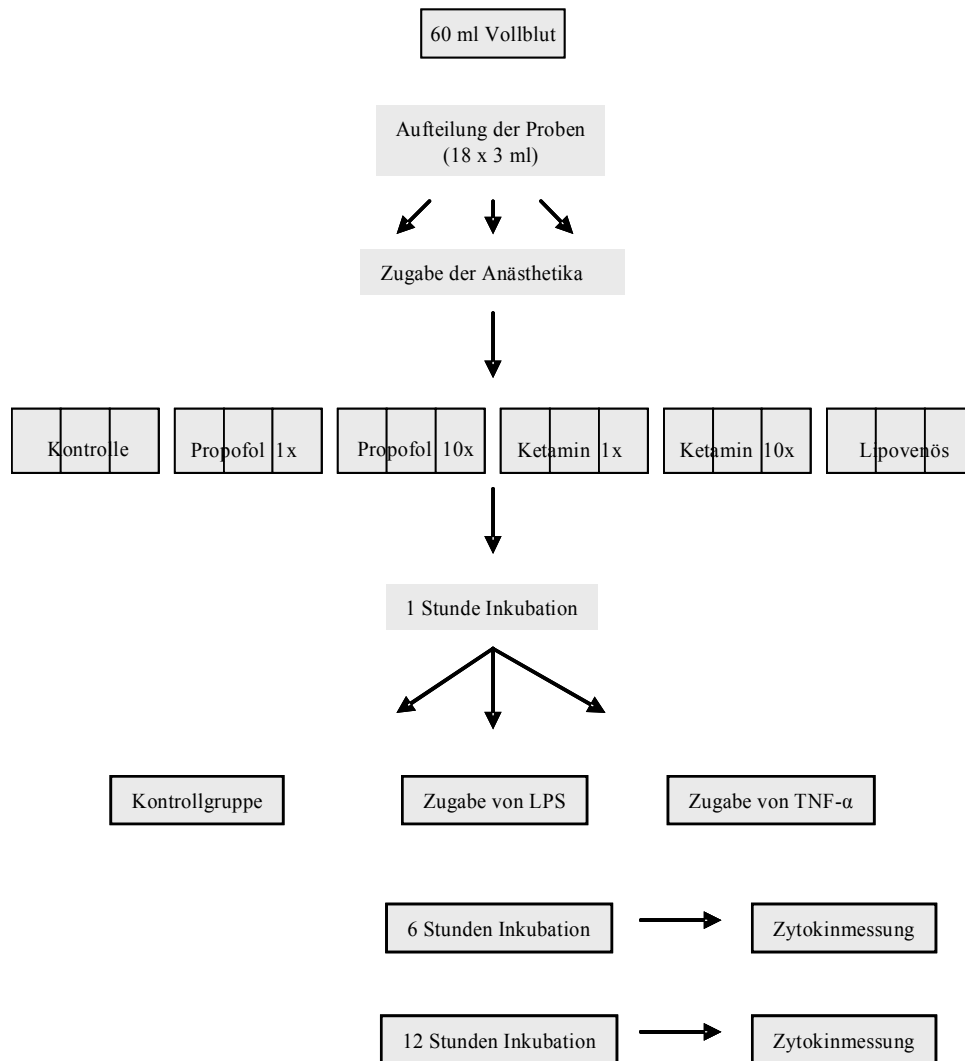
## 2. Material und Methoden

### 2.1 Vollblutansatz

Von 5 gesunden Probanden (m, m, m, w, w) wurden jeweils 60 ml venöses Blut mit Lithium-Heparinmonovetten (Sarstedt Monovette, Nuembrecht, Deutschland) entnommen und unmittelbar danach steril weiterverarbeitet. Das Blut eines jeden Probanden wurde auf insgesamt 18 Zentrifugenröhrchen verteilt, so dass jede Probe ein Blutvolumen von 3 ml hatte. Von diesen wurden jeweils drei mit den Anästhetika Propofol und Ketamin für einen Zeitraum von einer Stunde vorinkubiert. Dazu wurde eine klinisch übliche Dosis gewählt, im Folgenden auch als „einfache Dosis“ (1x) bezeichnet (Propofol:  $1,57 \cdot 10^{-4}$  M, Ketamin:  $5,89 \cdot 10^{-5}$  M). Diese Konzentrationen der Anästhetika wurden unter der Annahme eines Körpergewichts (KG) von 70 kg, einem Blutvolumen von 5 l und einer zur Einleitung einer Narkose üblichen Injektionsdosis von 2 mg/kg KG Propofol (Propofol 1 %, Fresenius Kabi, Bad Homburg), 1 mg/kg KG Ketamin (Ketamin Curamed, CuraMED Pharma GmbH, Karlsruhe) festgelegt. Des Weiteren wurden jeweils drei Proben mit einer pharmakologischen Dosis, der „zehnfachen“ (10x) der klinisch üblichen Dosis (Propofol:  $1,57 \cdot 10^{-3}$  M, Ketamin:  $5,89 \cdot 10^{-4}$  M), behandelt. Als Kontrolle diente für Propofol Lipovenös (Lipovenös 20 %, Fresenius Kabi, Bad Homburg) in einer Konzentration, die dem Gehalt der pharmakologischen Dosis von Propofol an Sojaweiß entsprach. Da Ketamin Curamed keine Konservierungsstoffe enthält, konnte hier auf eine Kontrolle verzichtet werden. Drei weitere Proben blieben unbehandelt.

Nach Ablauf der einstündigen Inkubation in einer angefeuchteten Atmosphäre bei 37 °C und 5 % CO<sub>2</sub> wurde jeweils eine Probe jeder Dreiergruppe mit 1 µg/ml LPS (Lipopolysaccharid LPS E. coli 0111:B4, Sigma; Deisenhofen) stimuliert und eine zweite mit 15 ng/ml TNF-α (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim). Die dritte Probe jeder Gruppe blieb als Kontrolle unbehandelt. Die Dosierungen des Endotoxins und des Tumornekrosefaktor-α wurden gewählt, da in Vorversuchen gezeigt werden konnte, dass sie eine maximale Zytokinausschüttung hervorrufen.

Nach einer weiteren sechsständigen Inkubation wurden 1,5 ml aus jedem Röhrchen entnommen, zentrifugiert, das Serum aliquotiert und bei -70 °C eingefroren. Die verbliebenen 1,5 ml in jeder Probe wurden weitere sechs Stunden unter den selben Bedingungen inkubiert und nach Ablauf dieser Zeit ebenfalls zentrifugiert, aliquotiert und eingefroren.



### Abb. 2.1: Versuchsschema des Vollblutansatzes

60 ml venöses Blut eines jeden Probanden wurden auf 18 Zentrifugenröhrchen verteilt und mit Ausnahme der Kontrolle in Anwesenheit der Anästhetika vorinkubiert. Nach Ablauf einer Stunde wurden die jeweiligen Proben mit LPS oder TNF- $\alpha$  stimuliert, eine Probe jeder Serie blieb als Kontrolle unbehandelt. Nach jeweils 6 und 12 Stunden wurden 1,5 ml aus jedem Röhrchen zur Zytokinmessung entnommen.

## 2.2 Zellkulturansatz

Es wurden HepG2-Zellen (DSMZ – Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig) benutzt, eine humane Hepatomazelllinie. Die Zellen wurden bei 37 °C und 5 % CO<sub>2</sub> im Brutschrank kultiviert.

### **2.2.1 Kultivierung der Zellen**

Die Zellen wurden in Kulturflaschen der Firma Sarstedt (75 cm<sup>2</sup>; Sarstedt, Nuembrecht, Deutschland) ausgesät und mit 15 ml Zellkulturmedium (Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM; PAA Laboratories, Cölbe, Deutschland) + 10 % fetales Kälberserum (FCS) + 50 µg/ml Gentamycin) bedeckt. Das Medium wurde einmal pro Woche erneuert. Die Zellen wurden montags passagiert, der Mediumwechsel fand donnerstags statt.

### **2.2.2 Passagieren der Zellen**

Das Medium wurde aus den Zellkulturflaschen pipettiert und verworfen. Die Zellen wurden mit 5 ml phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS: 137 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 1,3 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1,4 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) gespült, dann mit 3 ml Trypsin (Trypsin/EDTA, PAA Laboratories, Cölbe, Deutschland) für 5 min bei 37 °C und 5 % CO<sub>2</sub> im Brutschrank inkubiert und danach durch Schütteln gelöst. Die in Trypsin schwimmenden Zellen wurden mit Zellkulturmedium ab gespült, aus den Flaschen pipettiert und in ein Zentrifugenröhrchen (10 ml, Sarstedt Nuembrecht, Deutschland) mit 7 ml Medium gegeben, gezählt und in dem gewünschten Verhältnis in neue Kulturflaschen ausgesät.

### **2.2.3 Versuchsansatz**

Die Zellen wurden am Vortag gesplittet, in 75 cm<sup>2</sup> Kulturflaschen ausgesät und mit 5 ml Medium bedeckt. Aus einer Schale wurde zur Sicherstellung gleicher Bedingungen in den verschiedenen Versuchsserien am Versuchstag die Zellzahl ermittelt. Da diese leicht variierte, wurden die gemessenen Chemokinkonzentrationen auf die Zellzahl bezogen; die Konzentration der Anästhetika und der eingesetzten Zytokine war wegen des gleichen Flüssigkeitsvolumens in allen Schalen konstant.

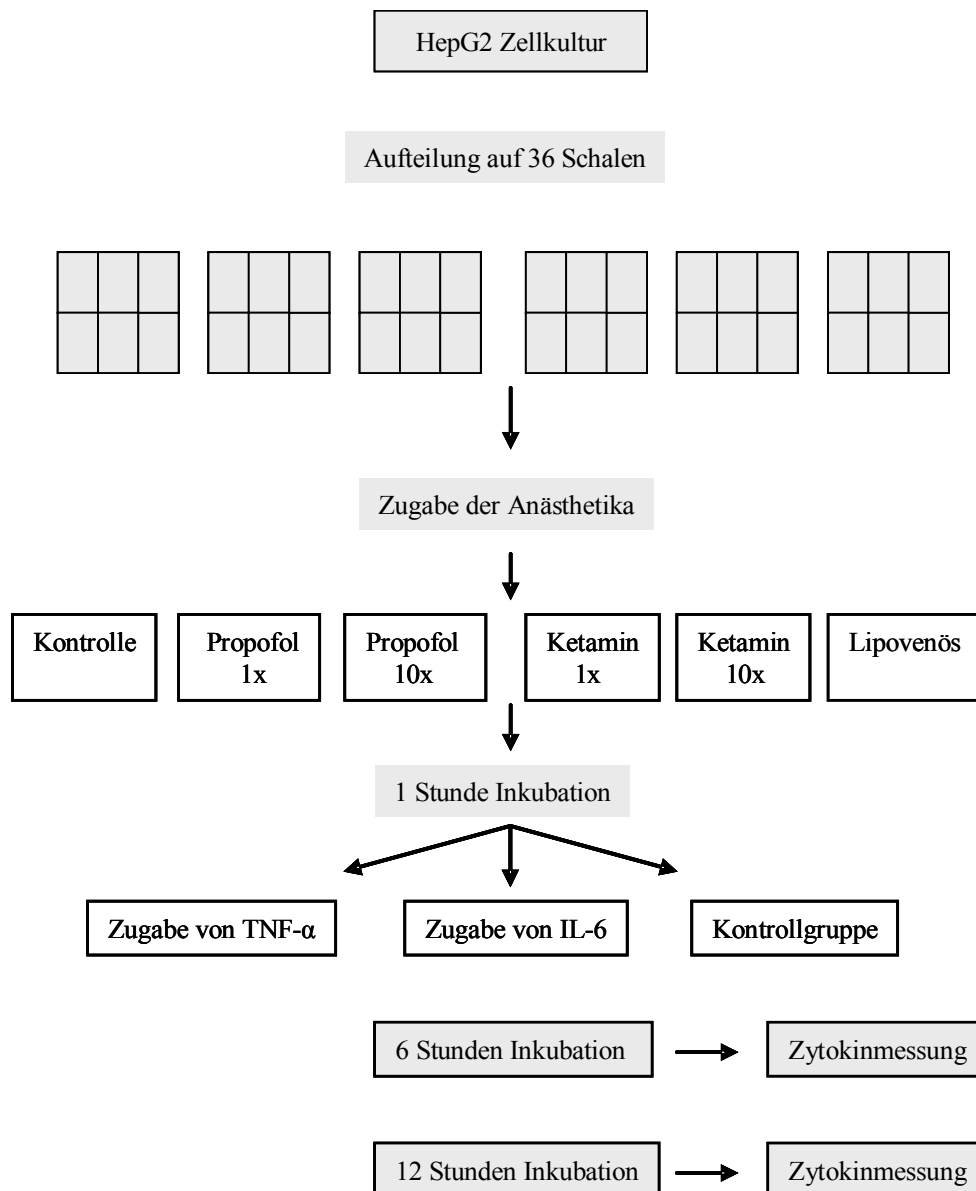
Ein Versuchsansatz bestand aus 36 Schalen mit jeweils ca. 4 Mio. Zellen, welche auf zwei parallele Ansätze verteilt wurden. Die Wahl der Anästhetika- und Zytokinkonzentration erfolgte analog zu der im Vollblutansatz.

Ein Ansatz bestand aus jeweils drei Schalen, welche mit Propofol 1x, Propofol 10x, Ketamin 1x, Ketamin 10x und Lipovenös vorinkubiert wurden, und drei Schalen, die vorerst unbehandelt blieben. Nach der Vorinkubationszeit von 1 Stunde blieb eine Schale

unbehandelt, den anderen beiden wurden TNF- $\alpha$  bzw. 15 ng/ml Interleukin-6 (IL-6) (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim) zugegeben.

Nach sechs Stunden Inkubation bei 37 °C und 5% CO<sub>2</sub> im Brutschrank wurden die Überstände abpipettiert, aliquotiert und bei -70 °C eingefroren.

Der zweite Teil des Ansatzes gestaltete sich bis auf eine längere Inkubationszeit von 12 Stunden analog zu dem ersten.

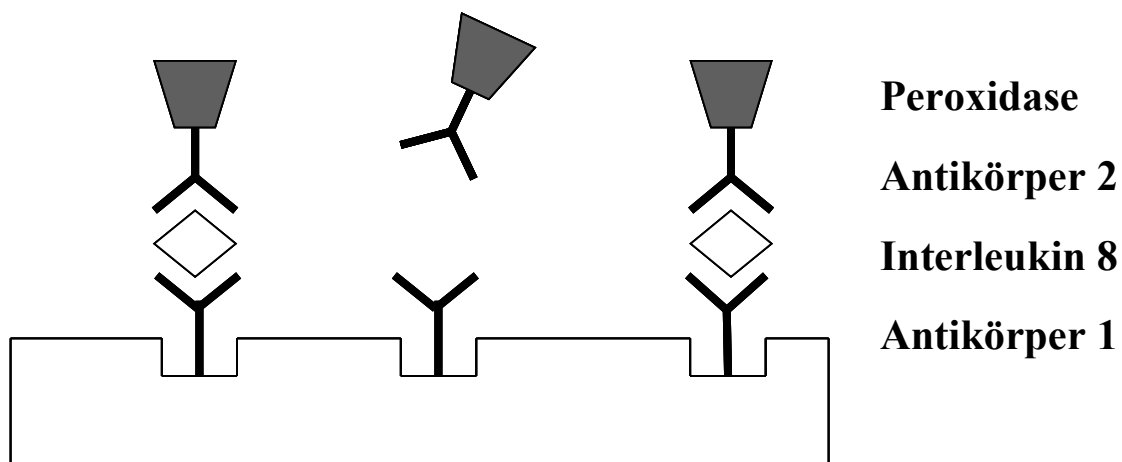


**Abb. 2.2: Versuchsschema des HepG2-Zellkulturansatzes**

Die Zellen wurden auf die verschiedenen Ansätze verteilt und mit den Anästhetika für eine Stunde inkubiert, eine Serie wurde als Kontrolle belassen. Nach Ablauf der Vorinkubationszeit wurden den Schalen TNF- $\alpha$ , IL-6 zugegeben, zwei Schalen pro Gruppe wurden als Kontrolle keine Zytokine zugesetzt. Nach jeweils 6 und 12 Stunden Inkubation wurden die Überstände der Zellkulturen zur Zytokinmessung abpipettiert.

### 2.3 Quantifizierung von Interleukin-8 (IL-8) mit ELISA

Die spontane, die endotoxinstimulierte und die durch TNF- $\alpha$  oder IL-6 stimulierte Synthese des Zytokins IL-8 wurde mit einem spezifischen ELISA- (enzyme-linked immunosorbent assay) Messsystem (EASIA; Medgenix, Biosource, Ratingen, Deutschland) gemessen. Der Zytokinassay war nach dem „Sandwichprinzip“ aufgebaut (s. Abb. 2.3). Antikörper 1, der bereits an den Platten haftet und der später zugefügte Antikörper 2 binden an zwei verschiedenen Epitopen des zu messenden Zytokins. Nur bei spezifischer Bindung des Zytokins an den Antikörper 1 kann auch der mit dem Enzym für die Farbreaktion gekoppelte Antikörper 2 binden. Unspezifische Bindungen wurden durch mehrfache Waschschriffe gelöst. Somit war die Intensität der Farbreaktion proportional zur Menge des gebundenen Zytokins.



**Abb. 2.3: Schematische Darstellung des „Sandwich-Prinzips“ der ELISA-Messsysteme.**

Nur wenn Interleukin-8 an Antikörper 1 gebunden hat, kann auch Antikörper 2, der mit dem Enzym für die Farbreaktion gekoppelt ist, binden. Die beiden Antikörper binden an zwei verschiedene Epitope des Zytokins. Die Intensität der Farbreaktion ist proportional zur Menge der gebundenen Zytokine, da unspezifische Bindungen in mehrfachen Waschschriffen gelöst werden.

Die Vertiefungen der 96-Well-Platten zur Aufnahme der Proben sind bereits mit einem spezifischen monoklonalen Antikörper beschichtet. Nach Inkubation mit der Probe zur Anlagerung des IL-8 erfolgte die Zugabe eines zweiten Antikörpers, der an ein weiteres Epitop des Zytokins bindet und an Peroxidase gekoppelt ist. Nach Zugabe eines Substrates (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und Tetramethylbenzidin (TMB) in Dimethylformamid (DMF)) und anschließender

Farbreaktion wird die Extinktion, die der umgesetzten Menge Substrat und damit der Zytokinkonzentration der Probe proportional ist, gemessen.

Im Folgenden wird der Assay im Detail beschrieben: Im ersten Inkubationsschritt reagiert das in der Probe enthaltene IL-8 mit den fixierten Antikörpern (mAb1) und mit dem zugegebenen zweiten monoklonalen Antikörper (mAb2), der mit Meerrettich-Peroxidase gekoppelt ist. So entstehen Komplexe aus mAb1–IL-8–mAb2–Peroxidase. Nach einer zweistündigen Inkubationsphase werden unspezifisch gebundene Proteine und Serum mit einem Waschpuffer ausgewaschen. Anschließend wird als Substrat für die Peroxidase Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ; substrate buffer) zusammen mit Tetramethylbenzidin (TMB) in Dimethylformamid (DMF) zugegeben. Die daraus resultierende Farbreaktion wird nach 15 min Inkubation mit 1,8 normaler (N) Schwefelsäure gestoppt.

Die Absorption wird mittels eines ELISA-Readers (Mikrotek Laborsysteme GmbH) und unter Verwendung des Mikrowin Softwarepakets gemessen.

Alle Serumproben bzw. Zellkulturüberstände waren bis zur Messung bei  $-70\text{ °C}$  eingefroren. Bei jeder Messung wurde eine Standardkurve berechnet. Da in Vorversuchen gezeigt wurde, dass LPS die Zytokinausschüttung um ein Vielfaches steigert, wurden die Endotoxin-stimulierten Proben für die Messung von IL-8 im Verhältnis 1:20 verdünnt, um eine Messung im linearen Bereich der Standardkurve der Assays zu gewährleisten. Ebenso mussten die mit TNF- $\alpha$  stimulierten Proben im Verhältnis 1:10 verdünnt werden. Die IL-6-stimulierten und alle unstimulierten Proben blieben aufgrund der in Vorversuchen erhaltenen Ergebnisse unverdünnt.

## **2.4 Statistik**

Die statistische Auswertung erfolgte unter Verwendung des kommerziell erhältlichen Software-Pakets SigmaStat<sup>®</sup> (Version 3.5; Systat Software, Erkrath). Für die graphische Darstellung der Ergebnisse wurde Excel benutzt.

Für die Datenanalyse galt: Bei den stetigen Daten erfolgte zuerst eine Prüfung auf Normalverteilung mittels Kolmogorov-Smirnov-Test. Waren die Kriterien für eine parametrische Testung erfüllt, wurde eine einfaktorische Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. Wurde bei einer Varianzanalyse ein signifikanter Unterschied festgestellt, erfolgte anschließend der Student-Newman-Keuls-Test zur post-hoc-Analyse für multiple Vergleiche bzw. der Bonferroni-Test zur post-hoc-Analyse für Vergleiche gegen eine Kontrollgruppe. Waren die Kriterien für die Durchführung parametrischer Testverfahren nicht



erfüllt, so wurden entsprechende nichtparametrische Analyseverfahren (Mann-Whitney-U-Test, Wilcoxon-Test, Kruskal-Wallis-Test bzw. Friedman-Test) angewandt. Alle Tests wurden mit zweiseitiger Fragestellung durchgeführt, das Signifikanzniveau als  $p < 0,05$  festgelegt und die Daten als Mittelwert und Standardfehler (SEM) dargestellt. Die graphische Darstellung der Daten erfolgte als Balkendiagramm.

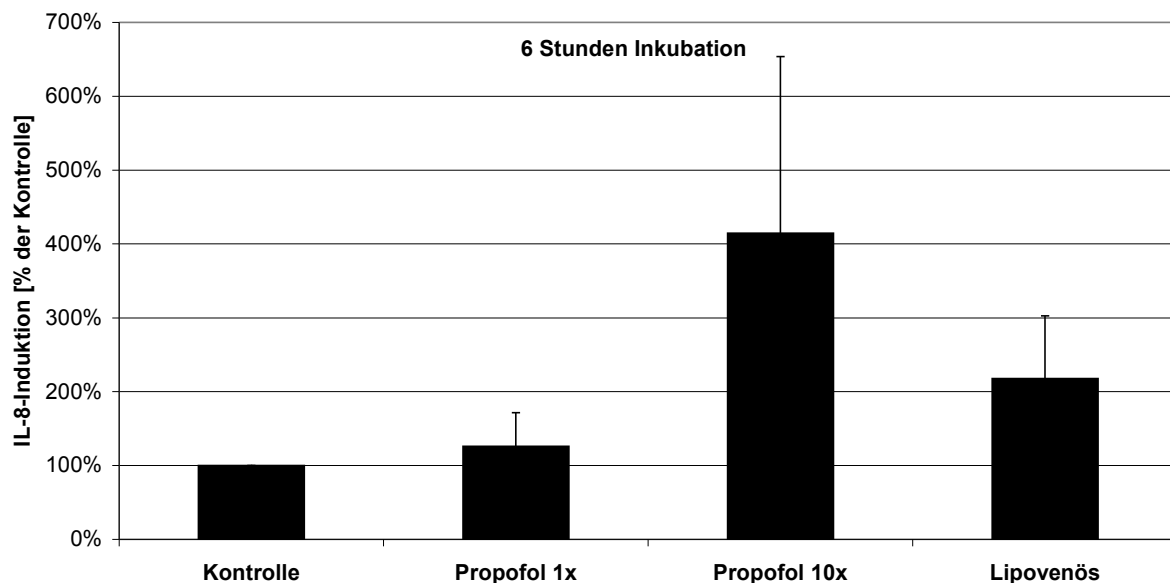
Aufgrund der hohen interindividueller Variabilität bei den einzelnen Versuchsansätzen erfolgte die Berechnung der Werte des gemessenen IL-8 in % der Kontrollen.

### 3. Ergebnisse

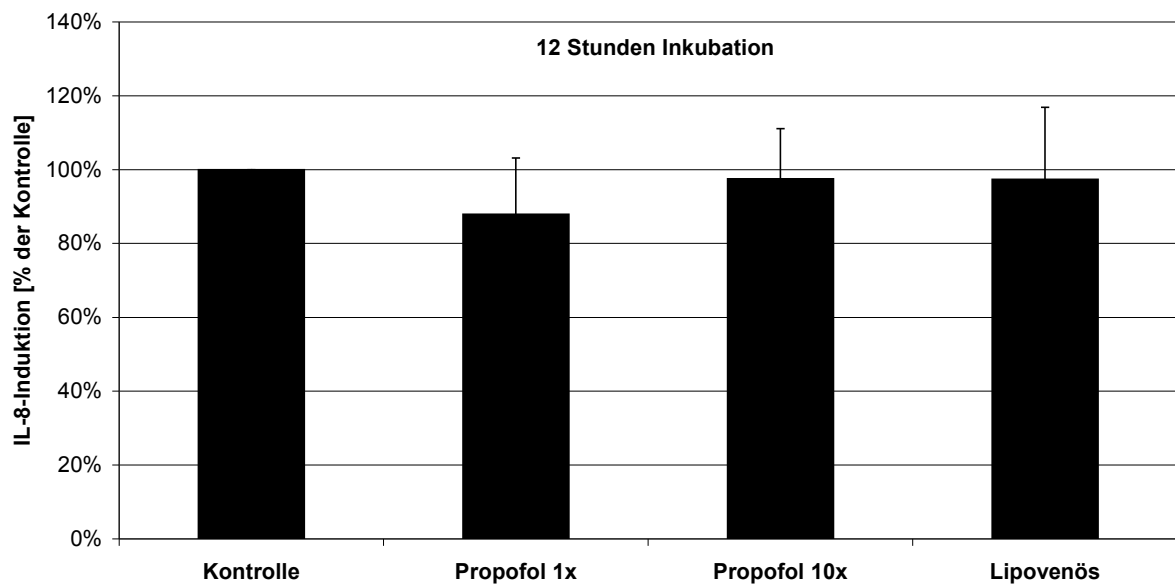
#### 3.1 Effekt von Propofol und Ketamin auf die Interleukin-8-Sekretion im kultivierten, humanen Vollblut

Das Vollblut wurde mit den Anästhetika Propofol oder Ketamin eine Stunde vorinkubiert und dann mit Lipopolysaccharid (LPS) oder Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- $\alpha$ ) stimuliert. Unbehandelte Ansätze dienten als Kontrolle. Die Anästhetika wurden jeweils in einer klinischen Dosierung (als 1x bezeichnet) und in einer pharmakologischen Dosis (die zehnfache der klinischen Dosis, 10x) eingesetzt. Ein zusätzlicher Ansatz wurde mit Lipovenös, dem Lösungsmittel von Propofol, behandelt. Nach 6 sowie 12 Stunden wurde die Interleukin-8 (IL-8) - Konzentration bestimmt. Da die Gesamtmenge am gemessenen IL-8 je nach Proband stark schwankte, wurde der Mittelwert der prozentualen Veränderung der Sekretion zur unbehandelten Kontrolle gebildet.

##### 3.1.1 Einfluss von Propofol und Ketamin auf die unstimulierte IL-8-Sekretion im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle

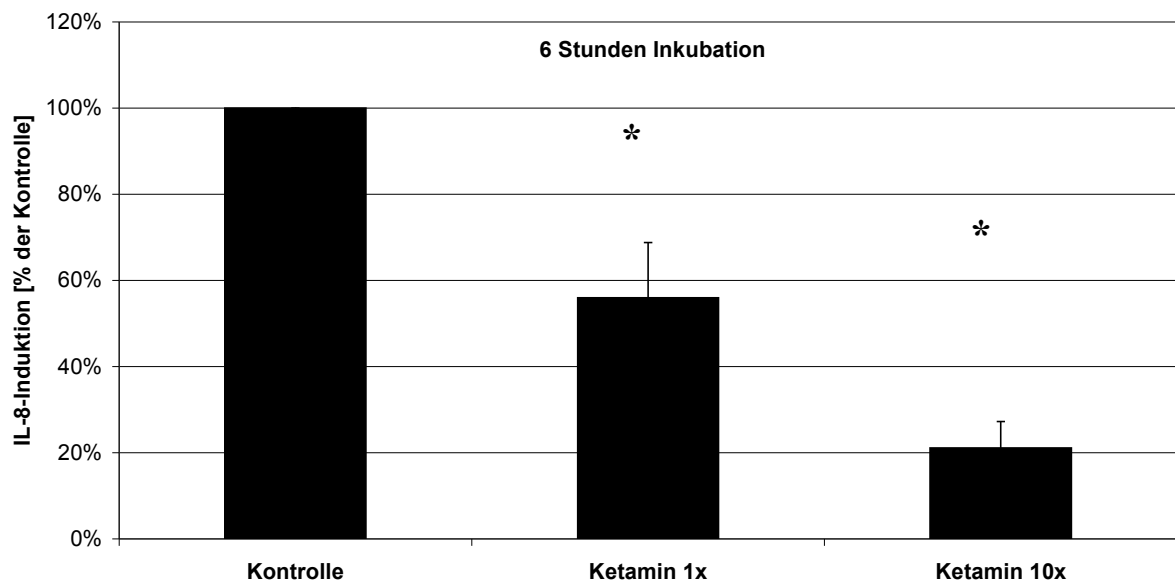


**Abb. 3.1:** Einfluss von Propofol und Lipovenös auf die unstimulierte IL-8-Sekretion im Vollblutansatz nach 6 Stunden Inkubation (nicht signifikant [ $p > 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])

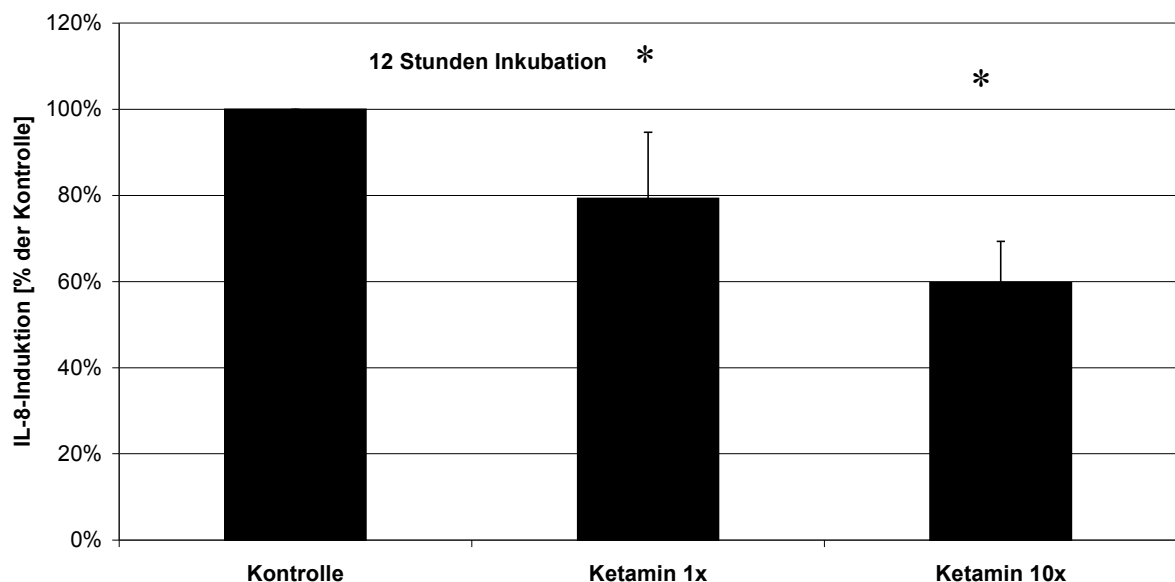


**Abb. 3.2:** Einfluss von Propofol und Lipovenös auf die IL-8-Sekretion im Vollblutansatz nach 12 Stunden Inkubation (nicht signifikant [ $p > 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])

Nach 6-stündiger Inkubation zeigte sich eine tendenzielle, jedoch nicht signifikante Steigerung der IL-8-Sekretion, vor allem bezogen auf die pharmakologische Konzentration an Propofol. Auch nach 12 Stunden konnte keine signifikante Veränderung der Chemokinsekretion gegenüber der Kontrolle nachgewiesen werden. Lipovenös zeigte zu keinem Zeitpunkt einen Effekt auf die IL-8-Sekretion.



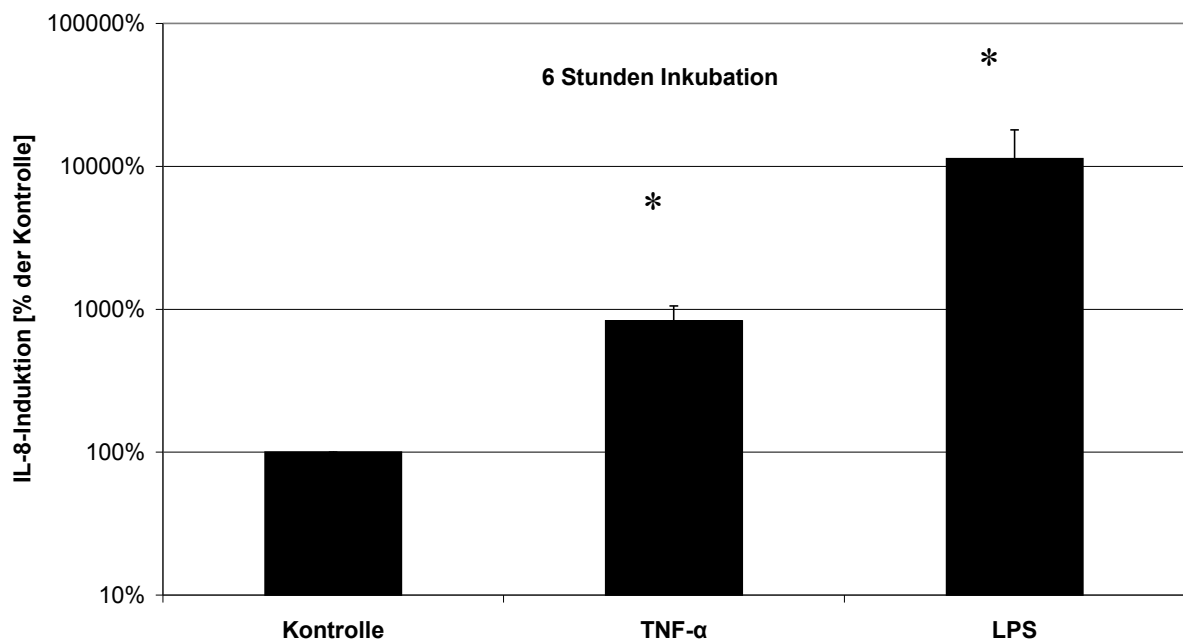
**Abb. 3.3:** Einfluss von Ketamin auf die unstimulierte IL-8-Sekretion nach 6 Stunden Inkubation (\* = signifikant vs. Kontrolle [ $p < 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])



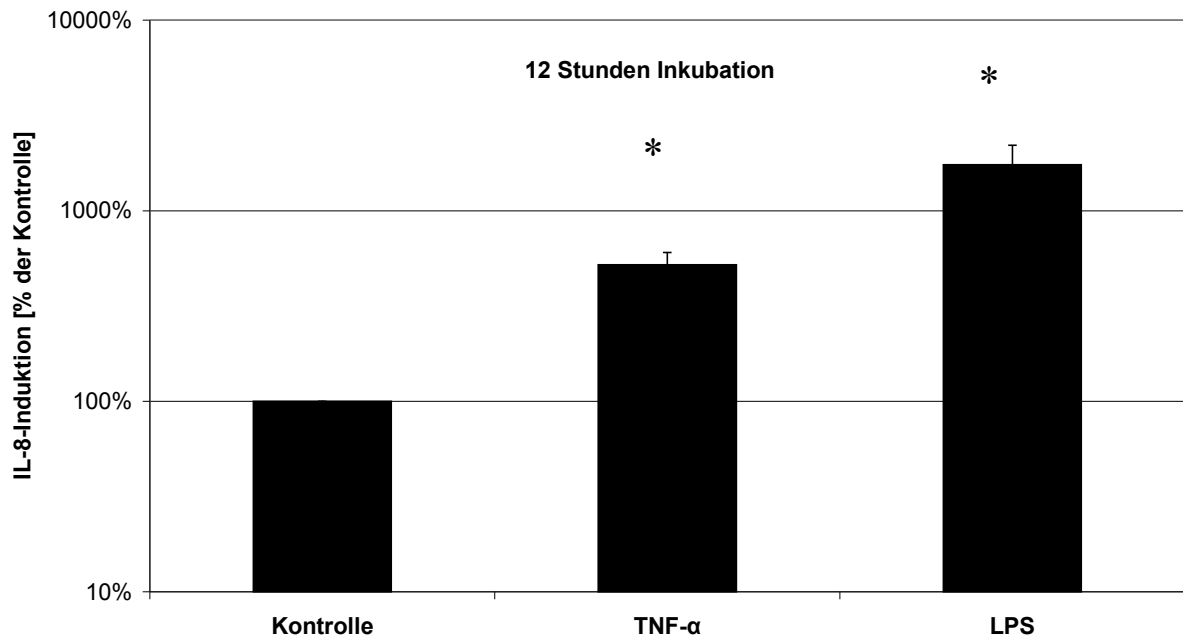
**Abb. 3.4:** Einfluss von Ketamin auf die unstimulierte IL-8-Sekretion nach 12 Stunden Inkubation (\* = signifikant vs. Kontrolle [ $p < 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])

Sowohl nach 6 Stunden als auch nach 12 Stunden ließ sich eine signifikante, dosisabhängige Inhibition der IL-8-Sekretion durch Ketamin nachweisen.

### 3.1.2 Einfluss von TNF- $\alpha$ und LPS auf die IL-8-Sekretion



**Abb. 3.5:** Einfluss von TNF- $\alpha$  und LPS auf die IL-8-Sekretion nach einer Inkubationszeit von 6 Stunden (\* = signifikant vs. Kontrolle [ $p < 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])

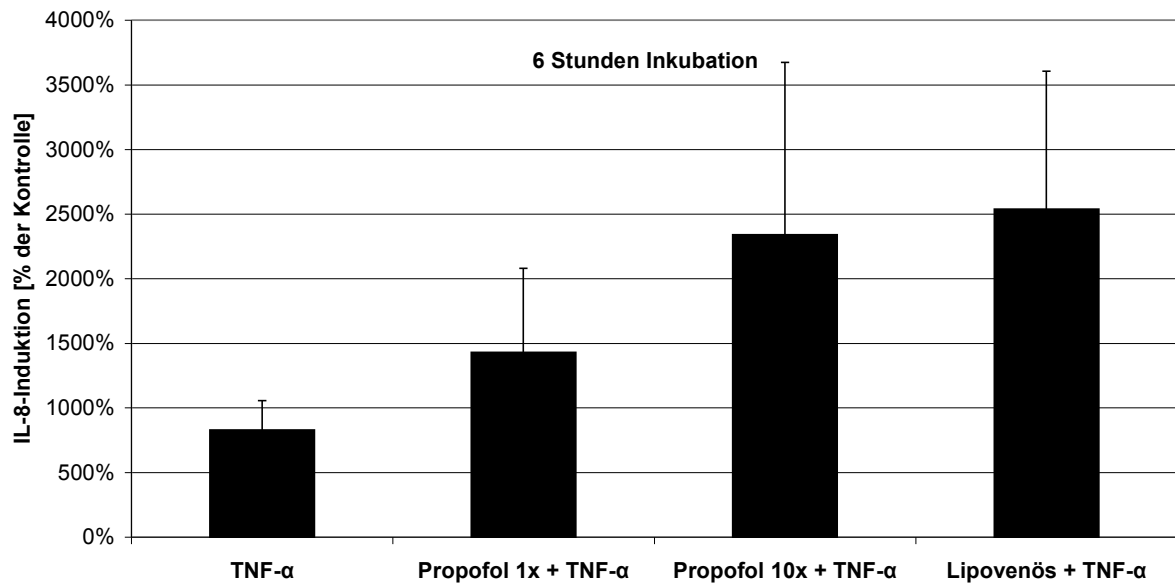


**Abb. 3.6:** Einfluss von TNF- $\alpha$  und LPS auf die IL-8-Sekretion nach einer Inkubationszeit von 12 Stunden (\* = signifikant vs. Kontrolle [ $p < 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])

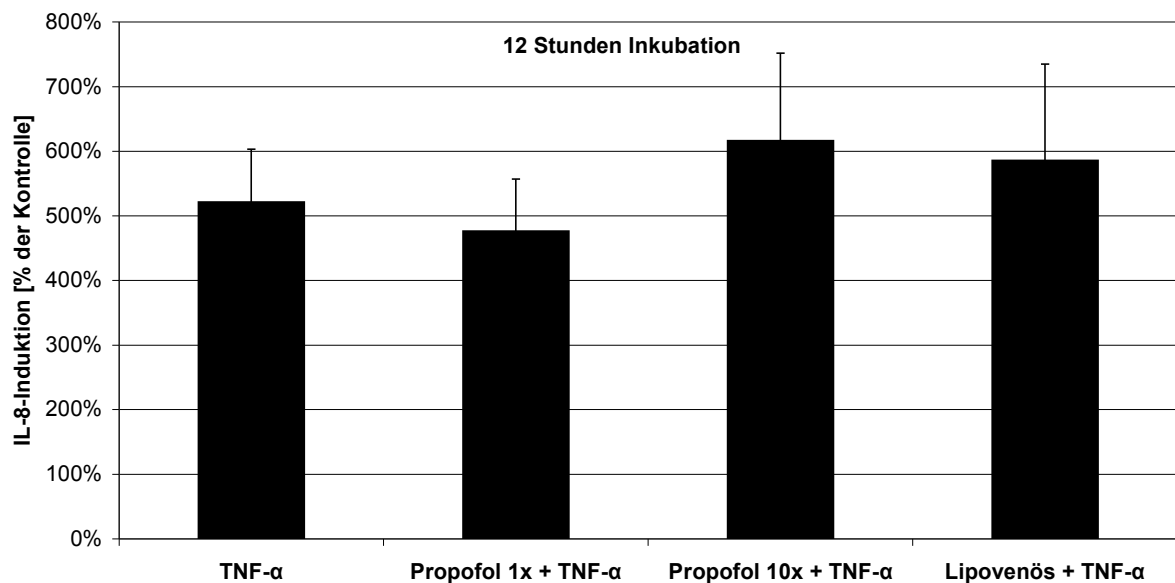
Sowohl TNF- $\alpha$  als auch LPS bewirkten eine signifikante Steigerung der IL-8-Sekretion im Vergleich zur Kontrolle, wobei LPS den deutlich potenteren Stimulus darstellte. Dieser Effekt war sowohl bei einer 6-stündigen als auch 12-stündigen Inkubationszeit nachweisbar.

### 3.1.3 Einfluss von Propofol und Ketamin auf die TNF- $\alpha$ -induzierte IL-8-Sekretion

Die nächste Versuchsreihe sollte den Einfluss einer Vorinkubation mit Propofol und Ketamin auf die TNF- $\alpha$ -induzierte IL-8-Sekretion beleuchten.



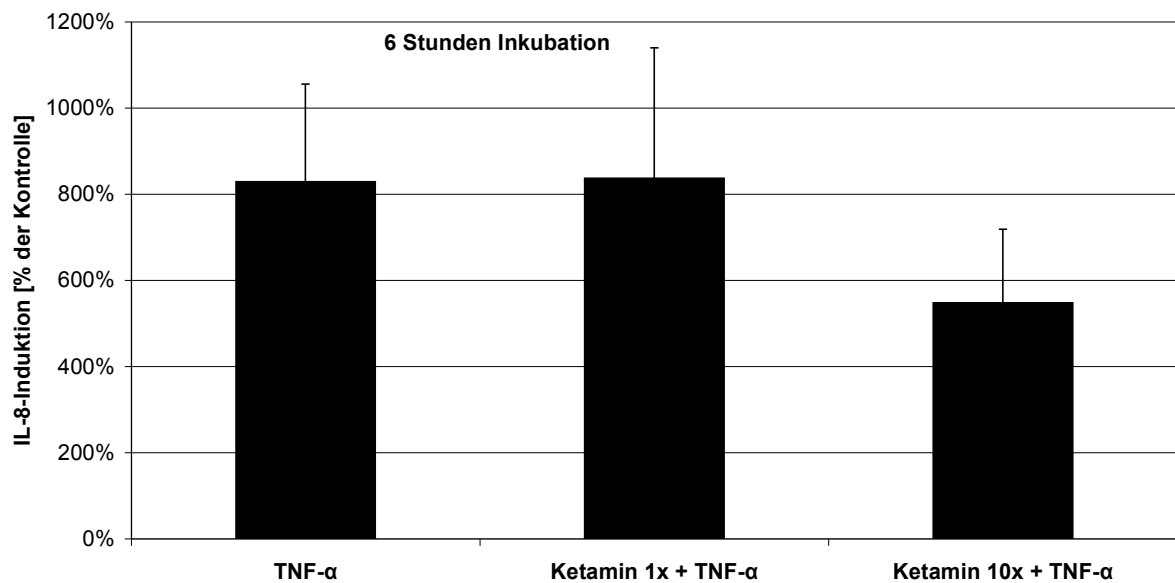
**Abb. 3.7:** Einfluss einer Vorinkubation mit Propofol oder Lipovenös auf die TNF- $\alpha$ -induzierte IL-8-Sekretion im Vollblut nach einer Inkubationszeit von 6 Stunden (nicht signifikant [ $p > 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])



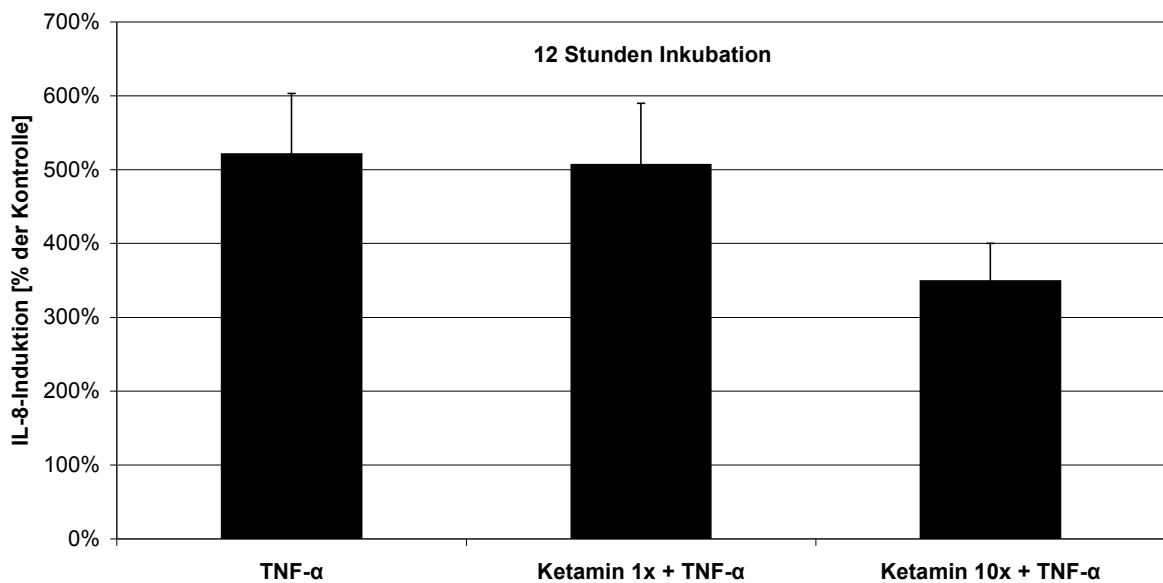
**Abb. 3.8:** Einfluss einer Vorinkubation mit Propofol oder Lipovenös auf die TNF- $\alpha$ -induzierte IL-8-Sekretion im Vollblut nach einer Inkubationszeit von 12 Stunden (nicht signifikant [ $p > 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])

Die Zugabe von TNF- $\alpha$  bewirkte im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle eine signifikante Zunahme der IL-8 Sekretion. Eine Vorinkubation mit Propofol und darauffolgende Zugabe von TNF- $\alpha$  führte jedoch bezogen auf die alleinige Inkubation mit TNF- $\alpha$  zu keiner signifikanten Veränderung der IL-8-Ausschüttung, weder nach einer Inkubationszeit von 6 Stunden noch nach 12 Stunden.





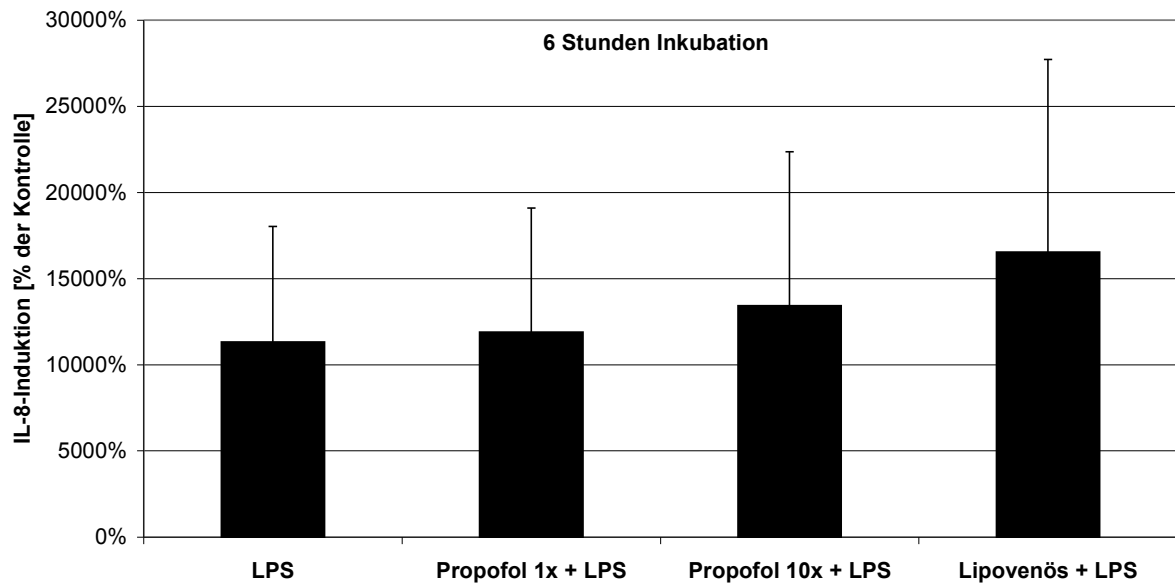
**Abb. 3.9:** Einfluss einer Vorinkubation mit Ketamin auf die TNF- $\alpha$ -induzierte IL-8-Sekretion im Vollblut nach einer Inkubationszeit von 6 Stunden (nicht signifikant [ $p > 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])



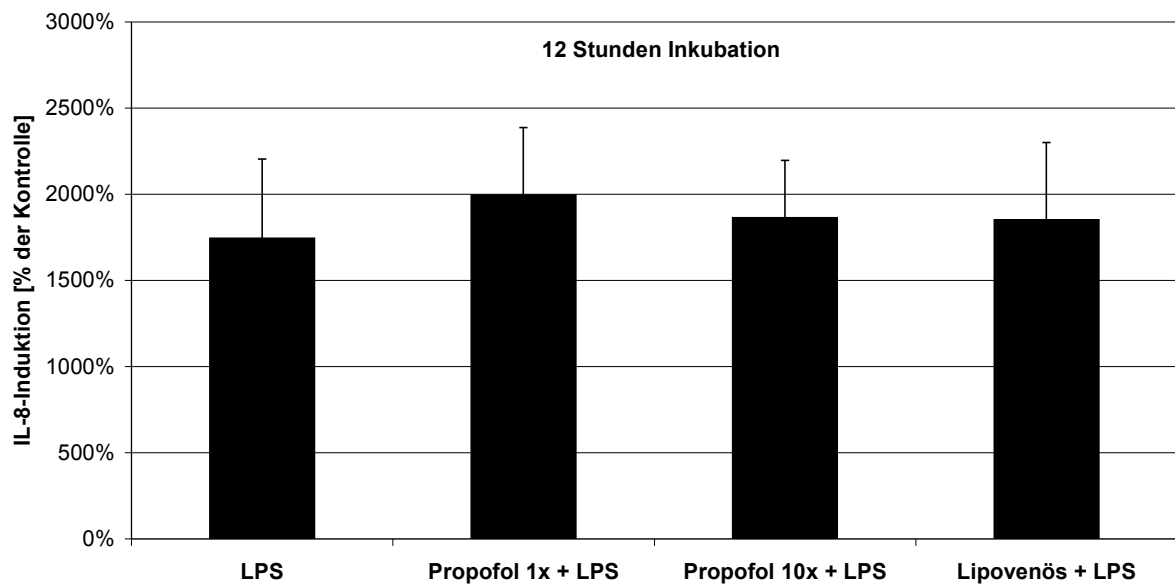
**Abb. 3.10:** Einfluss einer Vorinkubation mit Ketamin auf die TNF- $\alpha$ -induzierte IL-8-Sekretion im Vollblut nach einer Inkubationszeit von 12 Stunden (nicht signifikant [ $p > 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])

Auch die Vorinkubation mit Ketamin bewirkte keine signifikante Veränderung der durch TNF- $\alpha$  induzierten IL-8-Ausschüttung, weder nach 6-stündiger noch nach 12-stündiger Inkubationszeit.

### 3.1.4 Einfluss von Propofol und Ketamin auf die LPS-induzierte IL-8-Sekretion

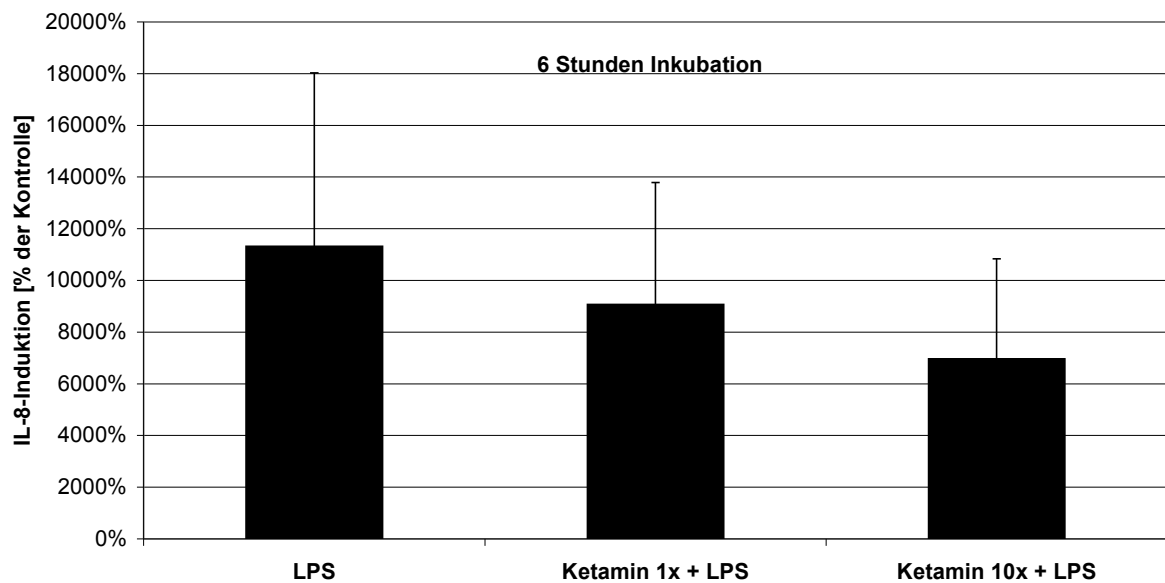


**Abb. 3.11:** Einfluss einer Vorinkubation mit Propofol und Lipovenös auf die LPS-induzierte IL-8-Sekretion im Vollblut nach einer Inkubationszeit von 6 Stunden (nicht signifikant [ $p > 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])

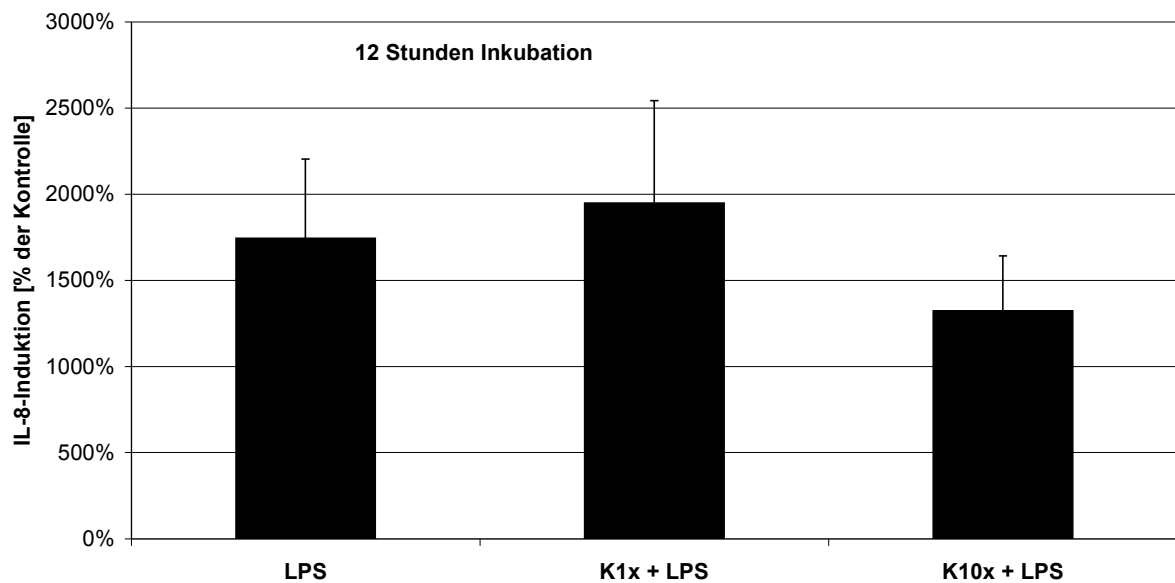


**Abb. 3.12:** Einfluss einer Vorinkubation mit Propofol und Lipovenös auf die LPS-induzierte IL-8-Sekretion im Vollblut nach einer Inkubationszeit von 12 Stunden (nicht signifikant [ $p > 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])

Wie auch im vorhergehenden Experiment gezeigt bewirkte die Zugabe von LPS eine deutliche, signifikante Zunahme der IL-8-Sekretion bezogen auf die unbehandelte Kontrolle. Eine Vorinkubation mit Propofol und eine darauf folgende LPS-Zugabe führte jedoch zu keiner signifikanten Veränderung der Chemokinsekretion bezogen auf den nur mit LPS-stimulierten Ansatz.



**Abb. 3.13:** Einfluss einer Vorinkubation mit Ketamin auf die LPS-induzierte IL-8-Sekretion im Vollblut nach einer Inkubationszeit von 6 Stunden (nicht signifikant [ $p > 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])



**Abb. 3.14:** Einfluss einer Vorinkubation mit Ketamin auf die LPS-induzierte IL-8-Sekretion im Vollblut nach einer Inkubationszeit von 12 Stunden (nicht signifikant [ $p > 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])

Eine signifikante Veränderung der durch LPS stimulierten IL-8-Ausschüttung ließ sich durch eine Vorinkubation mit Ketamin nicht nachweisen, weder nach 6 noch nach 12 Stunden.

### **3.1.5 Zusammenfassung der Ergebnisse des Vollblutansatzes**

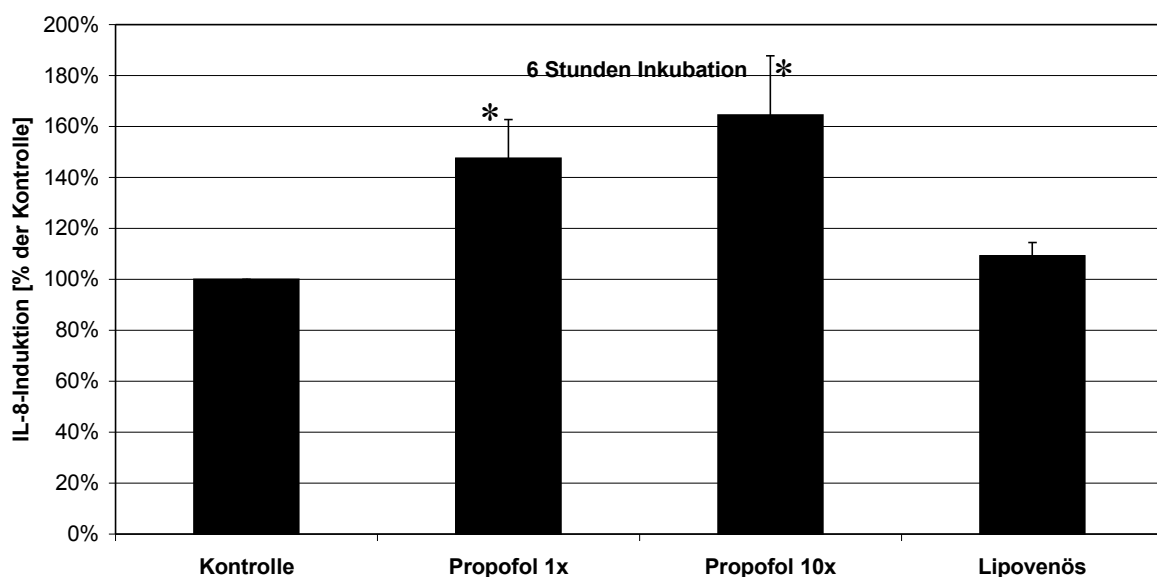
Im Vollblutansatz ließ sich eine signifikante Steigerung der IL-8-Sekretion sowohl durch TNF- $\alpha$  als auch durch LPS nachweisen. LPS war im Vergleich zu TNF- $\alpha$  der deutlich stärkere Induktor der IL-8-Ausschüttung. Ketamin bewirkte bezogen auf die basale, unstimulierte IL-8-Sekretion eine signifikante Abnahme. Bezüglich der ein- sowie der zehnfachen Konzentration zeigte sich hierbei kein statistisch signifikanter Unterschied. Nach Stimulation mit TNF- $\alpha$  sowie LPS war keine statistisch signifikante Veränderung sowohl durch Propofol als auch Ketamin mehr nachweisbar.

### 3.2 Einfluss von Propofol und Ketamin auf die Interleukin-8-Sekretion in humanen Hepatomazellen HepG2

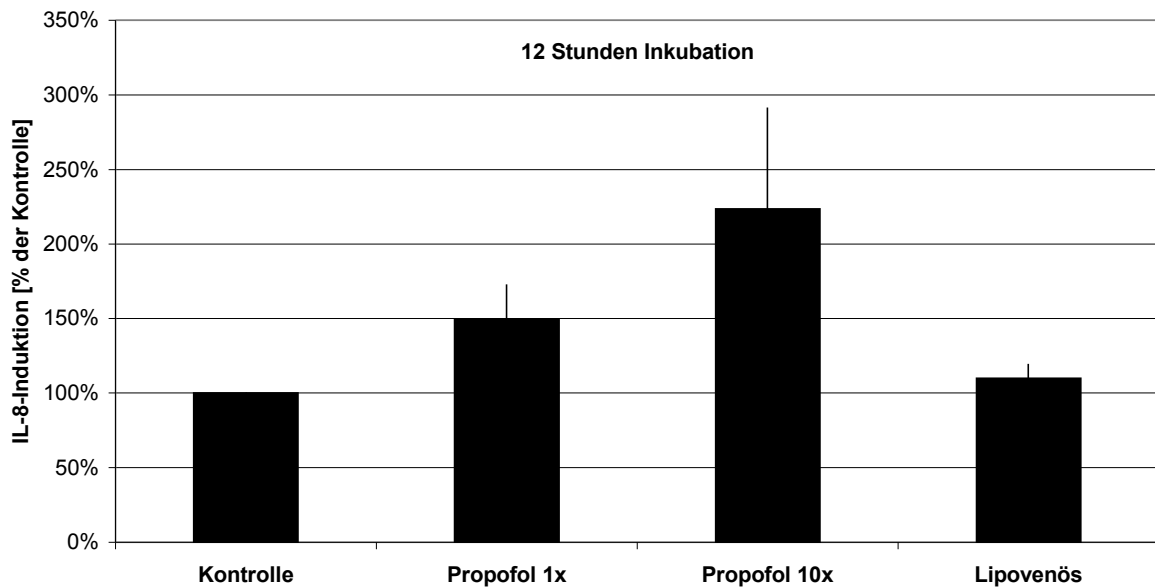
Die Leber als zentrales Organ der Proteinbiosynthese hat neben ihrer Schlüsselrolle im Stoffwechsel auch eine zentrale Rolle in der Synthese von Komponenten des Immunsystems. Zu diesen zählen neben den Akute-Phase-Proteinen und den Komplementfaktoren auch die Chemokine. In der vorliegenden Arbeit wurde als *in vitro*-Modell die humane Hepatomazelllinie HepG2 gewählt.

Ein Teil der Zellen wurde eine Stunde mit den Anästhetika vorinkubiert und dann mit TNF- $\alpha$  bzw. IL-6 für 6 bzw. 12 Stunden inkubiert.

#### 3.2.1 Einfluss von Propofol und Ketamin auf die IL-8-Sekretion im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle

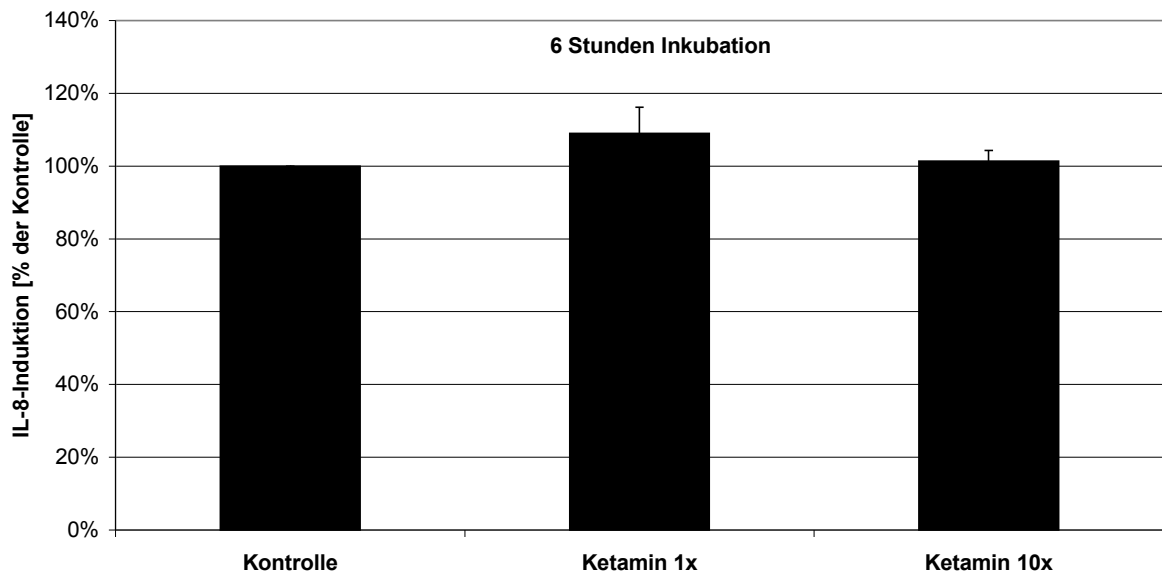


**Abb. 3.15:** Einfluss von Propofol auf die basale IL-8-Sekretion von HepG2-Zellen nach 6 Stunden Inkubation (\* = signifikant vs. Kontrolle [ $p < 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])

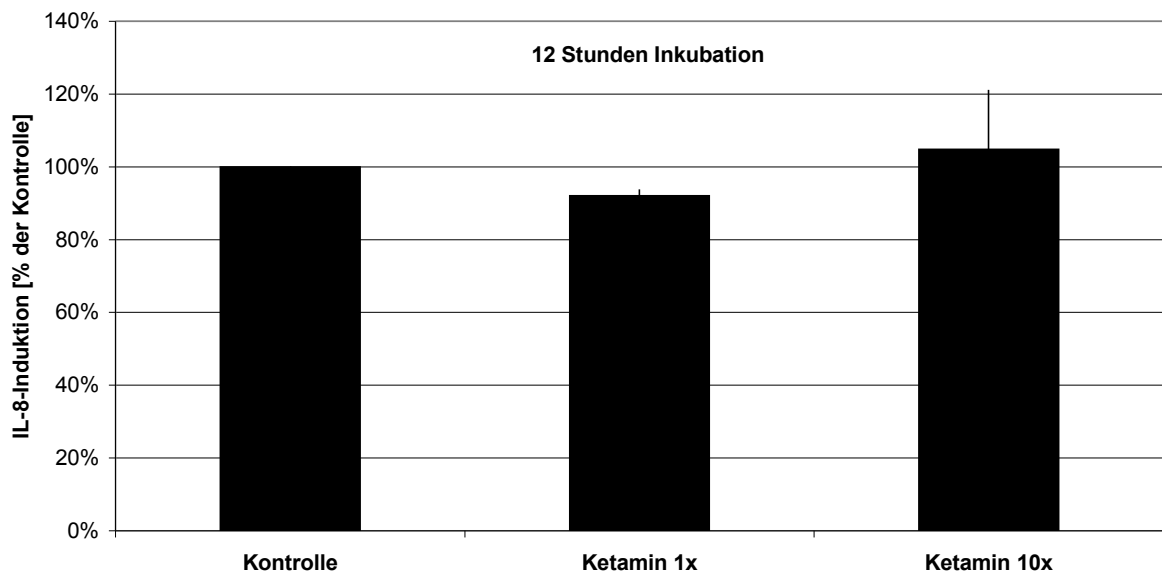


**Abb. 3.16:** Einfluss von Propofol auf die basale IL-8-Sekretion von HepG2-Zellen nach 12 Stunden Inkubation (nicht signifikant [ $p > 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])

Nach 6 Stunden Inkubation mit Propofol zeigte sich eine signifikante Zunahme der IL-8-Sekretion. Der beobachtete Effekt war unabhängig von dem in der Propofolzubereitung verwendeten Lösungsmittel, hier Lipovenös als Kontrollsubstanz. Der beobachtete Effekt war nach weiteren 6 Stunden jedoch nicht mehr signifikant bezogen auf die unbehandelte Kontrolle.



**Abb. 3.17:** Einfluss von Ketamin auf die basale IL-8-Sekretion von HepG2-Zellen nach 6 Stunden Inkubation (nicht signifikant [ $p > 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])

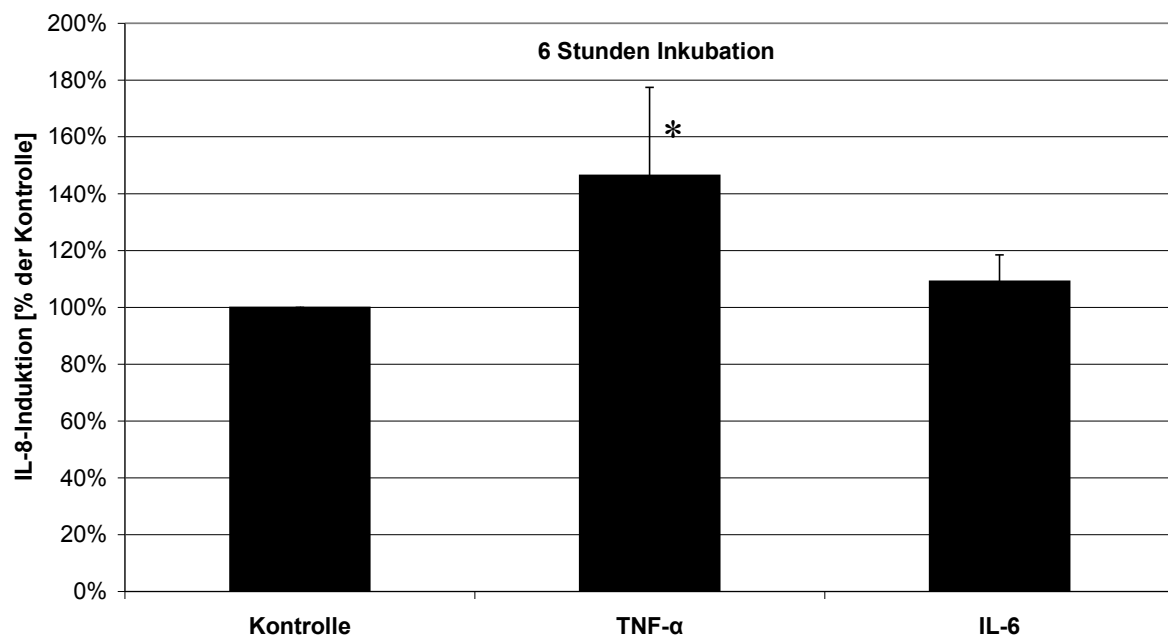


**Abb. 3.18:** Einfluss von Ketamin auf die basale IL-8-Sekretion von HepG2-Zellen nach 12 Stunden Inkubation (nicht signifikant [ $p > 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])

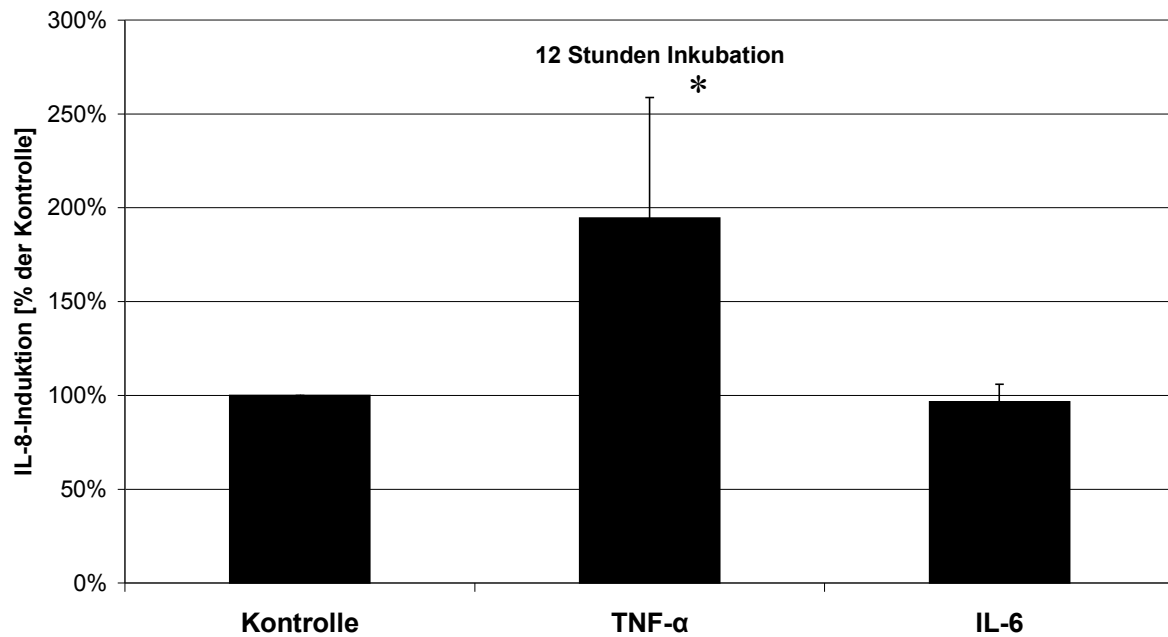


Im Gegensatz zu Propofol zeigte Ketamin keinen Einfluss auf die IL-8-Sekretion. Gegenüber der Kontrolle führte es zu keiner signifikanten Zu- oder Abnahme der Sekretion, sowohl nach 6 Stunden, als auch nach 12 Stunden.

### 3.2.2 Effekt von TNF- $\alpha$ und IL-6 auf die IL-8-Sekretion in HepG2-Zellen



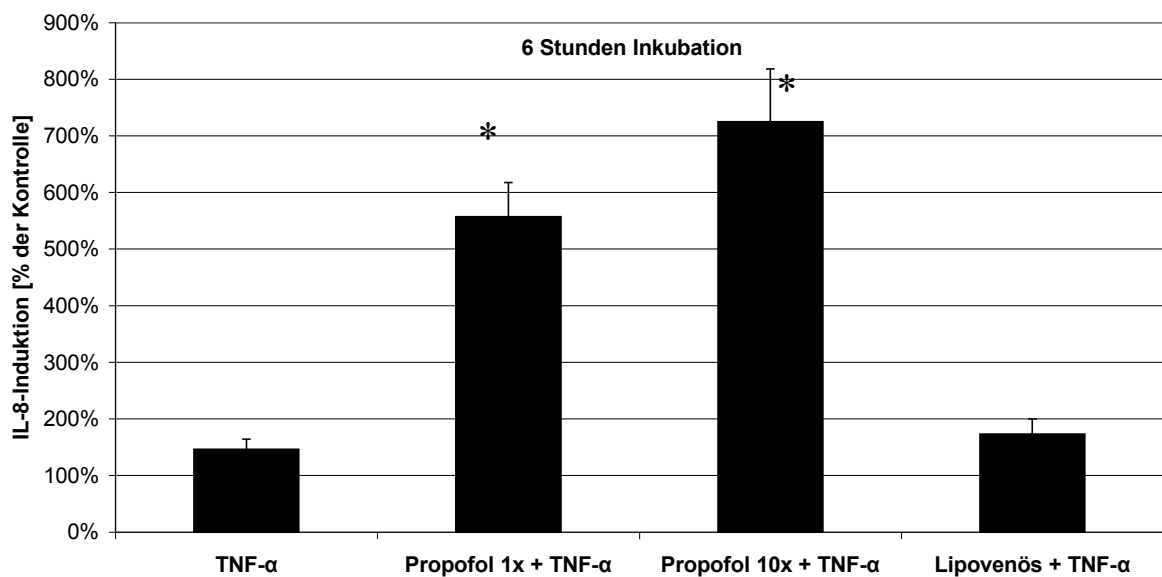
**Abb. 3.19:** Effekt von TNF- $\alpha$  und IL-6 auf die IL-8-Sekretion nach einer Inkubationszeit von 6 Stunden (\* = signifikant vs. Kontrolle [ $p < 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])



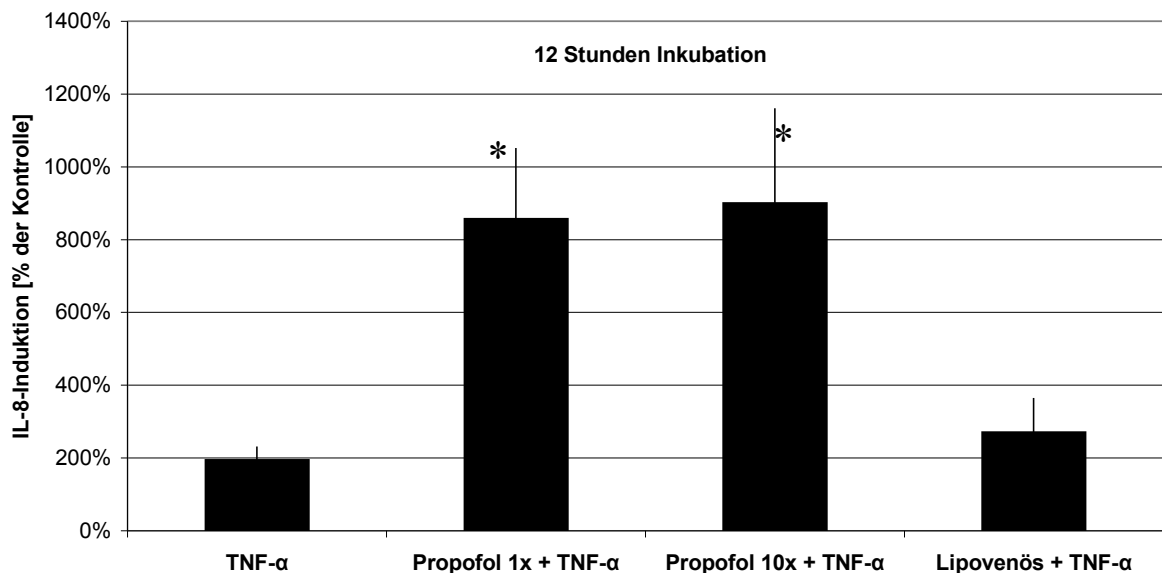
**Abb. 3.20:** Effekt von TNF- $\alpha$  und IL-6 auf die IL-8-Sekretion nach einer Inkubationszeit von 12 Stunden (\* = signifikant vs. Kontrolle [ $p < 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])

TNF- $\alpha$  bewirkte in der HepG2-Zellkultur eine signifikante Steigerung der IL-8-Sekretion. Im Gegensatz dazu konnte durch IL-6 keine signifikante Veränderung der IL-8-Sekretion dokumentiert werden.

### 3.2.3 Effekt von Propofol und Ketamin auf die TNF- $\alpha$ -induzierte IL-8-Sekretion

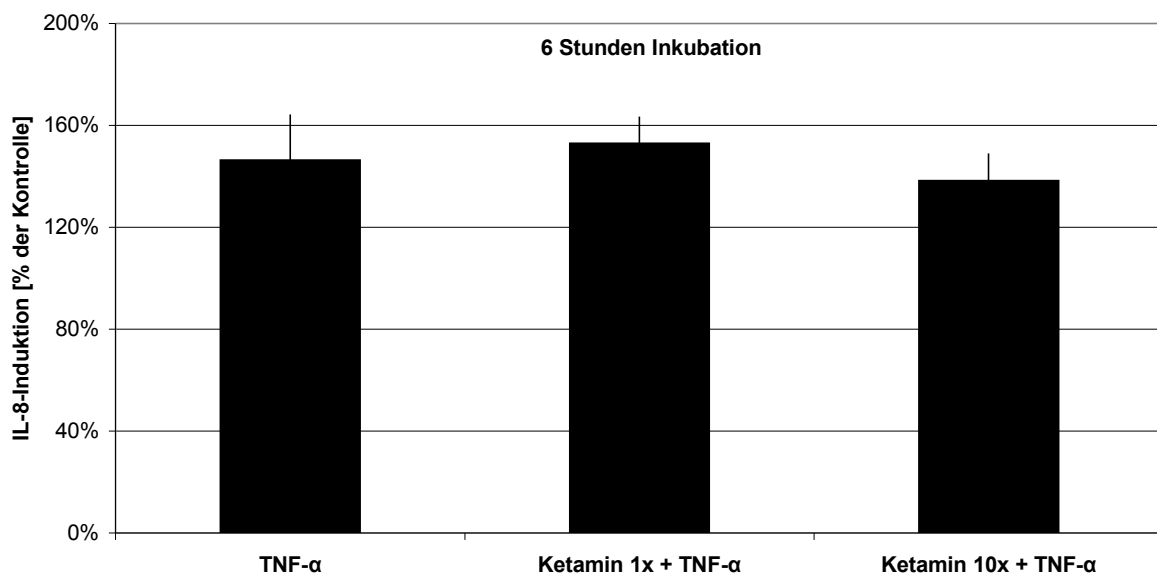


**Abb. 3.21:** Einfluss von Propofol und Lipovenös auf die TNF- $\alpha$ -stimulierte IL-8-Sekretion von HepG2-Zellen nach 6 Stunden Inkubation (\* = signifikant vs. Kontrolle [ $p < 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])

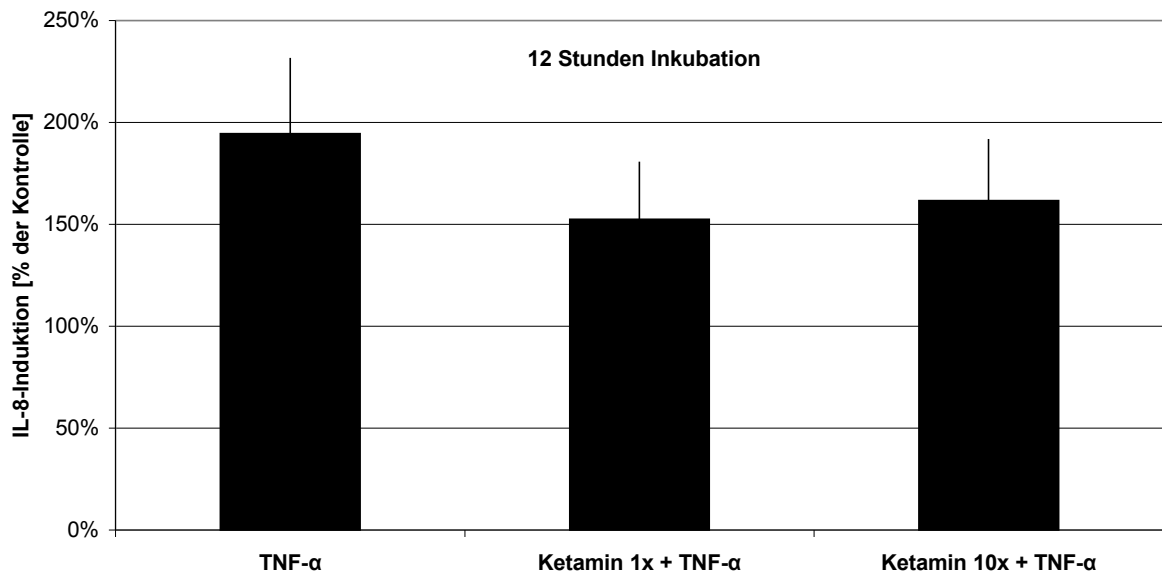


**Abb. 3.22:** Einfluss von Propofol und Lipovenös auf die TNF- $\alpha$ -stimulierte IL-8-Sekretion von HepG2-Zellen nach 12 Stunden Inkubation (\* = signifikant vs. Kontrolle [ $p < 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])

Eine Zugabe von TNF- $\alpha$  bewirkte im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle eine signifikante Zunahme der IL-8-Sekretion. Die Vorinkubation mit Propofol und eine darauf folgende Zugabe von TNF- $\alpha$  führte im Vergleich mit dem TNF- $\alpha$ -stimulierten Ansatz zu einer weiteren signifikanten Zunahme der IL-8-Sekretion sowohl nach 6- als auch nach 12-stündiger Inkubationszeit. Der beobachtete Effekt scheint substanzspezifisch für Propofol zu sein, das Lösungsmittel Lipovenös führte wie auch in den unstimulierten Ansätzen zu keiner Veränderung der TNF-vermittelten IL-8-Ausschüttung bezogen auf die jeweilige Kontrolle.



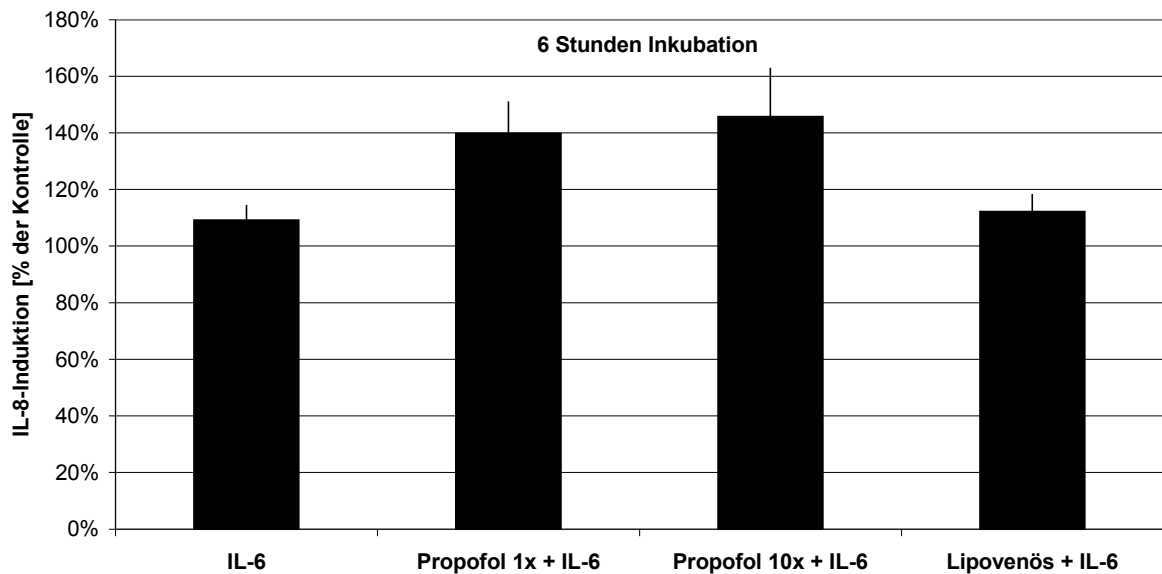
**Abb. 3.23:** Einfluss von Ketamin auf die TNF- $\alpha$ -stimulierte IL-8-Sekretion von HepG2-Zellen nach 6 Stunden Inkubation (nicht signifikant [ $p > 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])



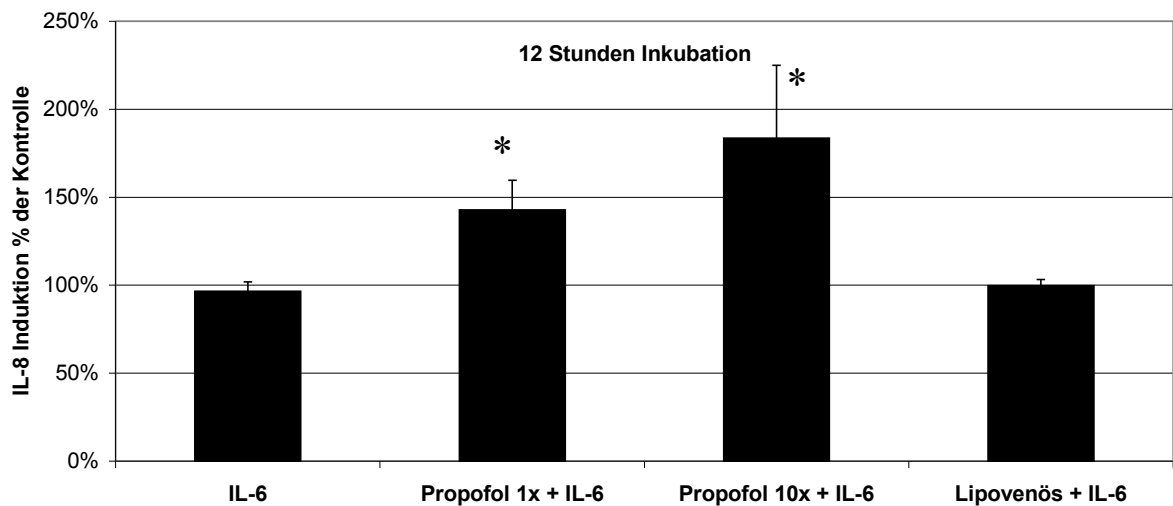
**Abb. 3.24:** Einfluss von Ketamin auf die TNF- $\alpha$ -stimulierte IL-8-Sekretion von HepG2-Zellen nach 12 Stunden Inkubation (nicht signifikant [ $p > 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])

Eine Vorinkubation mit Ketamin führte in keiner Konzentration und zu keinem Zeitpunkt zu einer signifikanten Veränderung der TNF-induzierten IL-8-Ausschüttung.

### 3.2.4 Einfluss von Propofol und Ketamin auf die IL-8-Sekretion nach Zugabe von IL-6

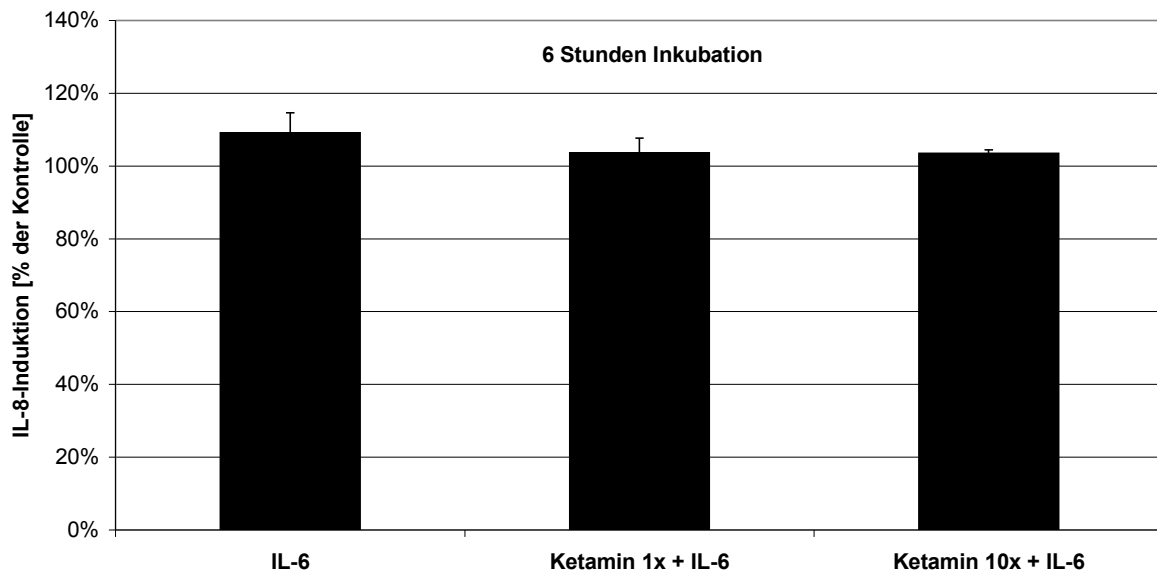


**Abb. 3.25:** Einfluss von Propofol auf die IL-6-stimulierte IL-8-Sekretion von HepG2-Zellen nach 6 Stunden Inkubation (nicht signifikant [ $p > 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])

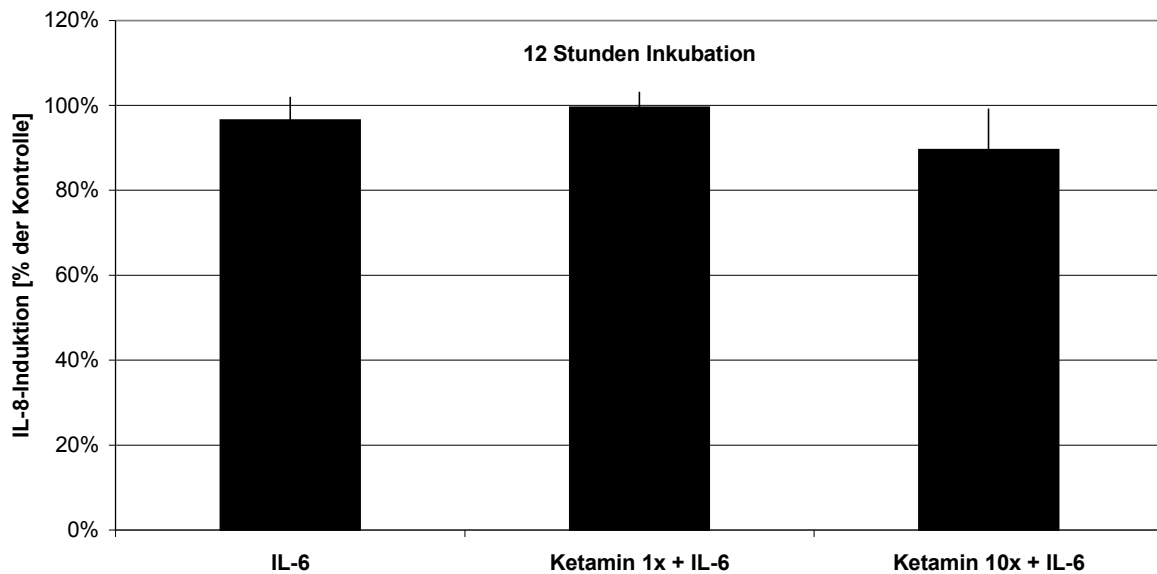


**Abb. 3.26:** Einfluss von Propofol auf die IL-6-stimulierte IL-8-Sekretion von HepG2-Zellen nach 12 Stunden Inkubation (\* = signifikant vs. Kontrolle [ $p < 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])

Nach 6 Stunden ließen sich keine signifikanten Effekte durch Stimulation mit IL-6 alleine nachweisen, insbesondere führte IL-6 zu keiner signifikanten Zunahme der IL-8-Ausschüttung. Propofol hatte bei 6-stündiger Inkubation keinen Effekt auf die IL-6-vermittelte IL-8-Ausschüttung. Nach 12 Stunden Inkubation ließ sich jedoch eine signifikante, substanzspezifische Zunahme der IL-8-Sekretion in den mit Propofol vorinkubierten Ansätzen belegen.



**Abb. 3.27:** Einfluss von Ketamin auf die IL-6-stimulierte IL-8-Sekretion von HepG2-Zellen nach 6 Stunden Inkubation (nicht signifikant [ $p > 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])



**Abb. 3.28:** Einfluss von Ketamin auf die IL-6-stimulierte IL-8-Sekretion von HepG2-Zellen nach 12 Stunden Inkubation (nicht signifikant [ $p > 0,05$ ]; Werte als Mittelwert und Standardfehler [SEM])

Eine Vorinkubation mit Ketamin führte in den Ansätzen zu keinem Zeitpunkt zu einer signifikanten Veränderung der IL-8-Sekretion nach Zugabe von IL-6.

### 3.2.5 Zusammenfassung der Ergebnisse des Zellkulturansatzes

Zusammenfassend lässt sich für die Zellkulturversuche sagen, dass  $\text{TNF-}\alpha$  im Gegensatz zu IL-6 zu einer signifikanten Zunahme der IL-8-Ausschüttung führte. Ketamin hatte keinen substanzspezifischen Einfluss auf die Chemokinausschüttung, jedoch führte die Vorinkubation mit Propofol in nahezu allen Versuchsansätzen zu einer deutlichen, statistisch signifikanten Zunahme der IL-8-Sekretion. Bezüglich der Dosierung der Anästhetika zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen der einfachen und der zehnfachen Konzentration.



## 4. Diskussion

### 4.1 Verwendete Versuchsmodelle

In der vorliegenden Studie wurden die Effekte von Propofol und Ketamin, zweier gebräuchlicher intravenöser Anästhetika, auf die unstimulierte und stimulierte IL-8-Sekretion im kultivierten humanen Vollblut und in der HepG2-Zellkultur untersucht. Als Stimuli wurden LPS und TNF- $\alpha$  (humanes Vollblut) bzw. TNF- $\alpha$  und IL-6 (HepG2-Zellen) eingesetzt. Ziel war es, eine etwaige Beeinflussung der Entzündungsreaktion durch die verwendeten Anästhetika zu verifizieren.

Eine adäquate Immunantwort wird durch das komplexe Zusammenspiel der funktionell unterschiedlichen Zellen des unspezifischen und des spezifischen Immunsystems und ihrer Mediatoren gewährleistet, welches maßgeblich von der Expression der Oberflächenrezeptoren und ko-stimulatorischer Moleküle (insbesondere der Zytokine) abhängt.

Der Einfluss volatiler und intravenöser Anästhetika auf das Immunsystem im Rahmen des chirurgischen Traumas wurde bereits von einer Vielzahl von Arbeitsgruppen in *in vivo*- und *in vitro*-Studien untersucht. Diskutiert werden als mögliche Folgen der perioperativen Immundysfunktion die postoperative Dissemination von Tumormetastasen, nosokomiale Infektionen und das SIRS. Die Interpretation der Ergebnisse von *in vivo*- und *in vitro*-Studien wie auch die Wichtung der klinischen Relevanz des spezifischen Effekts der Anästhetika sind jedoch schwierig oder umstritten (GALLEY, 2000).

Neben den Versuchen an Tiermodellen können die Untersuchungsmethoden am Menschen bzw. an menschlichen Zellen in zwei Gruppen eingeteilt werden.

*In vivo*-Untersuchungen am Patienten ermöglichen den Vergleich verschiedener Narkose- oder Anästhesieverfahren bezüglich immunologischer Parameter. Ein Problem dieses Versuchsansatzes ergibt sich aus der fehlenden Standardisierungsmöglichkeit der Narkosetiefe und aus individuellen Unterschieden der Probanden, neben Körpergewicht und Verteilungsvolumen, vor allem in den Gen-Polymorphismen verschiedenster Systeme des Körpers, von denen das Cytochrom P450 und, im Zusammenhang mit SIRS/Sepsis, auch der TNF- $\alpha$ - Polymorphismus zu nennen wären. Gemessene Unterschiede immunologischer und klinischer Parameter spiegeln also nicht notwendigerweise einen spezifischen Effekt des Anästhetikums wider.

Als *in vitro*-Untersuchungen werden Versuche an isolierten Zellen oder Zelllinien bezeichnet. Diese erlauben zwar die Betrachtung der direkten zellulären Wirkungen der eingesetzten Stoffe, allerdings nur in einem höchst artifiziellen System, verglichen mit dem komplexen Immunsystem. Es lassen sich also gewisse immunmodulatorische Eigenschaften der Anästhetika diskutieren. Als ein weiterer Punkt, der die Aussagekraft der *in vitro*-Versuche einschränkt, muss das Verfahren der Art der Zellgewinnung gesehen werden, da dieses einen nicht unerheblichen Einfluss auf die Zellfunktion ausüben kann. So wird z. B. das Adhärenzverhalten von Granulozyten bei der Aufreinigung über einen Dichtegradienten gesteigert. Das Überführen der Zellen aus ihrer natürlichen Umgebung in ein artifizielles System beeinflusst ebenfalls maßgeblich die Funktion der Zellen. Interaktionen werden aufgehoben, so z. B. zu dem nicht unerheblich an immunologischen Vorgängen beteiligten Endothel. Ferner muss beachtet werden, dass die aus dem Blut gewonnenen Zellen nicht repräsentativ für die im Gewebe aktivierten und adhärennten immunkompetenten Zellen sind (AYALA, 1992; ZHU, 1995).

In der vorliegenden Studie wurden sowohl der Vollblutansatz, der einen Kompromiss zwischen der isolierten Zellkultur und der *in vivo*-Studie darstellt, als auch die HepG2-Zellkultur als Versuchsmodelle zur Charakterisierung der immunmodulatorischen Wirkungen auf die Chemokinsekretion zweier gebräuchlicher intravenöser Anästhetika etabliert.

Im Vollblutansatz verbleiben die Zellen in ihrem physiologischen Milieu, es findet kein Aufreinigungsvorgang statt, und eine Vielzahl der physiologischen Zell-Zell-Interaktionen, insbesondere die kritische Interaktion von Monozyten und Lymphozyten, bleibt erhalten. Allerdings muss die Phase der Gewinnung und der Verarbeitung der Zellen, auch wenn sie sich nur sehr kurz gestaltet, als potentieller Stress angesehen werden. Ebenso muss der fehlende Kontakt zum Endothel beim Vollblutansatz als Einschränkung betrachtet werden.

Den Zellen in der HepG2-Zellkultur fehlen die Interaktionen mit den spezifischen Nachbarzellen, wie Kupfferzellen, hepatische Sternzellen und Endothel, sowie der Kontakt zum Blutplasma mit seinen verschiedensten Botenstoffen. Im Gegenzug ist es aber gerade dadurch möglich, eine Aussage über die spezifische Beeinflussung eines einzelnen Zelltyps durch die untersuchten Anästhetika zu treffen, ungestört von externen Einflüssen.

## 4.2 Diskussion der Methodik

In der vorliegenden Studie wurde die Modulation der Sekretion von IL-8, einem Zytokin aus der Familie der Chemokine, durch die intravenösen Anästhetika Propofol und Ketamin untersucht.

Die Plasmakonzentration des Chemokins wurde mittels eines spezifischen, kommerziell erhältlichen Verfahrens analysiert, dem *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Der in dieser Studie verwendete ELISA-Kit gehört zu den Standardverfahren der quantitativen Zytokinanalyse und funktioniert nach dem „Sandwichprinzip“, bei dem das zu bestimmende Zytokin zwischen zwei Antikörpern gebunden wird, die an verschiedenen Epitopen des Zytokins angreifen. Der Vorteil des Verfahrens gegenüber biologischen Zytokin-Messverfahren liegt in der einfachen Durchführbarkeit und hohen Spezifität des Assays.

## 4.3 Anästhesie und Immunsystem

### 4.3.1 Historische Aspekte

In der *Berliner Klinischen Wochenschrift* berichtete Snel im Jahre 1903 erstmals systematisch über den Einfluss einer Anästhesie auf den Verlauf einer Milzbrandinfektion durch intratracheale Anthraxinstillation bei Meerschweinchen. Aus dem beobachteten Verlauf der Infektion schloss er, dass neben „großer Ermüdung, Erkältung, Hunger, Durst und anderen Faktoren, die die rettenden Kräfte aufheben (...), auch die Narkose unter jene Umstände gebracht werden muss, welche die Immunität beseitigen“. Die mit Anthrax infizierten Tiere starben unter dem Bild einer Sepsis, wenn eine Inhalationsanästhesie mit Äther oder Chloroform nach, nicht jedoch vor der Instillation vorgenommen wurde, bzw. wenn durch Injektion von Chloralhydrat anästhesiert wurde. Morphin und eine lediglich zehninütige Äthernarkose hatten keinen nachteiligen Effekt. Bereits in dieser frühen Arbeit wurden substanzspezifische Effekte einzelner Anästhetika betont: Snel formulierte die Hypothese, dass der negative Effekt der Anästhesie auf die – so wörtlich – „bakteriziden Kräfte“ durch Alkoholderivate, nicht jedoch durch Opiate vermittelt werde (SNEL, 1903). Ebenfalls um die Jahrhundertwende beobachteten Chadbourne (CHADBOURNE, 1899 nach WALTON, 1979) und Mann (MANN, 1916 nach WALTON, 1979) eine Leukozytose infolge einer Diethyläthernästhesie. Diese Leukozytose korrelierte wahrscheinlich mit dem sympathomimetischen Effekt der Substanz (CHADBOURNE, 1899 nach WALTON, 1979),

da die Ausschüttung von Katecholaminen sowohl eine Zunahme von Lymphozyten und Neutrophilen als auch eine Veränderung ihrer Verteilung und Mobilisierung bewirken kann (DOUGHERTY, 1953 nach WALTON, 1979). Verschiedene Arbeitsgruppen postulierten im Gegensatz dazu eine vorübergehende Leukopenie unter Anästhesie mit Barbituraten, Diethyläther und Chloroform (SCHWEITZER, 1932; SMITH, 1948; USNEIK, 1965; alle nach WALTON, 1979).

Wesentlich später wurde, ebenfalls aufgrund tierexperimenteller Beobachtungen, ein weiterer Mechanismus der Wechselwirkung von Anästhesie und Immunsystem postuliert. Insbesondere in den frühen 1980er Jahren untersuchten Sklar, Keller und Laudenslager systematisch die Auswirkungen einer Stressantwort auf die Zellen des Immunsystems. So zeigten Keller et al., dass in Abhängigkeit von der Ausprägung eines Stressereignisses, vom einfachen Festhalten einer Ratte in einer Röhre bis hin zur Anwendung von Stromimpulsen steigender Intensität, eine progrediente Abnahme zirkulierender Lymphozyten sowie eine Beeinträchtigung der mitogenstimulierten Proliferation der Lymphozyten resultierten. Hiermit korrelierten im Experiment eine Infektanfälligkeit sowie eine signifikante Steigerung der Metastasierungsrate inokulierter Tumorzellen (KELLER, 1981; SKLAR, 1979; LAUDENSLAGER, 1983).

Aufgrund dieser Beobachtungen sind zumindest zwei Ebenen der Interaktion von Anästhesie und Immunsystem möglich: zum einen substanzspezifische Effekte der chemisch heterogenen Gruppe der Anästhetika auf immunkompetente Zellen, zum anderen eine Modulation der komplexen, durch das chirurgische Trauma ausgelösten, neurohumoralen Stressantwort.

#### **4.3.2 Einfluss von Anästhetika auf die perioperative Stressantwort**

In den letzten Jahrzehnten beschäftigten sich mehrere Arbeitsgruppen mit dem Einfluss verschiedener Anästhesieverfahren auf die perioperative Stressantwort. Diese kann auf verschiedenen Ebenen erfolgen, und zwar durch eine afferente Blockade, eine zentrale Beeinflussung oder durch periphere Interaktionen mit dem endokrinen System. So erwies sich die Inhalationsanästhesie in der Reduktion der neurohumoralen Stressantwort als weniger wirksam als die Neuroleptanalgesie und die Spinal- und Periduralanästhesie. Die physiologische Stressreaktion kann durch die Spinal- und Periduralanästhesie jedoch auch unerwünscht stark beeinträchtigt werden. Es hat sich gezeigt, dass sich eine kontrollierte Modulation günstiger auswirkt als eine Blockade der Stresshormone (ADAMS, 1991). In einem Vergleich zwischen einer totalen intravenösen Anästhesie mit Propofol und einer mit

Isofluran geführten Narkose zeigte Adams, dass die Patienten, die mit Propofol behandelt wurden, bei vergleichbarem chirurgischem Trauma signifikant geringere Plasmakonzentrationen an Adrenalin, Noradrenalin und Cortisol aufwiesen. Hinsichtlich der Konzentrationen von ADH und ACTH war kein Unterschied messbar. Die verminderte sympathoadrenerge Reaktion unter Propofol spiegelte sich physiologisch trotz eines in beiden Gruppen vergleichbaren systolischen Blutdrucks in einer verminderten Herzfrequenz wider (ADAMS, 1994).

Das intravenöse Anästhetikum Etomidat stand vor allem in den 1980er Jahren im Mittelpunkt verschiedener Untersuchungen. Es wurde nach seiner Einführung zunächst auch für die Langzeitsedierung eingesetzt. In einer retrospektiven Untersuchung der Jahre 1969 bis 1982 berichteten Watt et al. über eine Verdoppelung der Mortalität beatmeter Intensivpatienten in den Jahren 1981 und 1982, verglichen mit den Vorjahren. Als wesentlichen Unterschied in der Patientenbehandlung fanden die Autoren, dass, im Gegensatz zu der früher üblichen Analgosedierung (mit Morphin und Benzodiazepinen), Morphin und Etomidat benutzt worden waren. Bei letzterem Kollektiv lag die Mortalität bei 77 %, während die der Patienten mit dem alten Behandlungsschema bei vergleichbarer Erkrankungsschwere nur 28 % betrug. Unter der Therapie mit Morphin und Benzodiazepinen sank die Mortalität in den Folgejahren wieder auf 25 %. Die Ursache für die gesteigerte Sterblichkeit unter Etomidat wird von den Autoren mit der peripheren Wirkung der Substanz auf das neuroendokrine System begründet (WATT, 1984). Arbeitsgruppen um Wagner, Fragen und Diago bewiesen einen antiglucocorticoiden Effekt von Etomidat durch eine Inhibition der 11- $\alpha$ -Hydroxylase in der Nebennierenrinde. Schon eine Einzeldosis von 0,04 mg/kg hemmt dieses Enzym der Cortisolbiosynthese, das heißt, der hemmende Effekt auf die Cortisolbiosynthese tritt schon unter einer geringeren Konzentration als der narkotische Effekt ein (WAGNER, 1984; FRAGEN, 1984; DIAGO, 1988). Die Ergebnisse von Watt belegen dabei die unter Umständen dramatische Wirkung solcher immunmodulatorischen Effekte der Anästhetika auf die Prognose des Patienten, insbesondere bei Langzeitanwendung in der Intensivmedizin.

In einem Vergleich zwischen Thiopental und Etomidat zeigten Fragen und Mitarbeiter, dass bei Anwendung von Thiopental die Cortisol- und Aldosteronkonzentrationen im Plasma ansteigen, während sie bei Etomidat absinken; die Konzentrationen an Katecholaminen waren dagegen in beiden Gruppen vergleichbar (FRAGEN, 1984). Thiopental kann in sehr hohen Dosen *in vitro* die Cortisolantwort auf ACTH blockieren, doch unter klinischen Dosen bleibt die Reaktion im Normbereich (LAMBERT, 1986). Im Gegensatz zu der peripheren Hemmung durch Etomidat greifen Opiode wahrscheinlich zentral in die neuroendokrine

Stressantwort ein. Über eine Hemmung der Sekretion von Releasing-Hormonen des Hypothalamus vermindern sie die Hypophysenhormonsekretion. So zeigte George, dass Fentanyl in hohen Dosen, wie sie z. B. in der Kardiochirurgie verwendet werden, die ACTH-Freisetzung durch die Hypophyse reduzierte, die Antwort auf exogenes ACTH aber erhalten blieb (GEORGE, 1974).

Die Regionalanästhesie scheint hinsichtlich der Reduktion der perioperativen Stressantwort eine besondere Rolle einzunehmen. Der spezifische Vorteil gegenüber der Allgemeinanästhesie besteht vor allem in der längeren, lückenloseren und damit wirkungsvolleren Unterdrückung afferenter Impulse, welche die neurohumorale Stressantwort unterhalten. In einem Vergleich zwischen Allgemeinanästhesie und Regionalanästhesie zeigte Kehlet, dass, verglichen mit einer Regionalanästhesie, zur vergleichbaren Reduktion der intraoperativen endokrin-metabolischen Antwort im Rahmen einer Allgemeinanästhesie hohe Dosen Opiate und Inhalationsnarkotika erforderlich waren. Eine Reduktion der Stressantwort war zudem nach Regionalanästhesie auch postoperativ nachzuweisen (KEHLET, 1982). Der Effekt der lumbalen Periduralanästhesie auf die endokrine Stressantwort und die Stickstoffbilanz ist vor allem bei Eingriffen im Unterbauch zu beobachten, nicht so sehr bei Oberbauchoperationen, da hierbei nur eine partielle afferente Blockade erreicht wird (KEHLET, 1988).

Der postoperative Einsatz von Lokalanästhetika in der Schmerztherapie reduziert nach Naito et al. wirksam einen Anstieg der Stresshormone. Untersucht wurde dort die Stressantwort unter epiduraler Blockade bei Pankreatikoduodenektomie bzw. bei Hüftgelenkersatz. Die Autoren postulierten, dass für die Stressantwort nicht nur afferente Impulse aus dem Operationsgebiet verantwortlich sind, sondern auch eine Stimulation der Zytokinantwort, da bei der Pankreatikoduodenektomie hohe Zytokinkonzentrationen mit hohen Konzentrationen der Stresshormone korrelierten (NAITO, 1992). In einer *in vitro*-Studie zeigten sie, dass die Inkubation von Nebennierenzellen mit Zytokinen die ACTH-induzierte Cortisolproduktion steigert (TOMINAGA, 1991). Tønnesen und Wahlgreen beobachteten, dass die Reduktion der Aktivität der natürlichen Killerzellen, welche im Rahmen einer Allgemeinanästhesie nachgewiesen werden kann, bei einer Regionalanästhesie nicht auftritt. In dieser Studie war zudem ebenfalls die ACTH-Konzentration reduziert (TØNNESEN, WAHLGREEN, 1988). Patienten, die als postoperative Schmerztherapie eine Patienten-kontrollierte Epiduralanästhesie erhielten, zeigten im Vergleich zu den Patientenkollektiven mit patientenkontrollierter Analgesie oder bedarfsadaptierter Opioidgabe einen geringeren Anstieg proinflammatorischer Zytokine in der postoperativen Phase (BEILIN, 2003).

#### 4.4 Klinische Anwendung von Propofol und Ketamin

Ketamin wird auf deutschen Intensivstationen vorzugsweise adjuvant zur Sedierung eingesetzt, wie eine Umfrage von Martin et al. im Jahr 2004 zeigte (MARTIN, 2004). Der Schwerpunkt liegt in der Sedierungsphase 24 bis 72 Stunden (20 % aller befragten Kliniken) und größer 72 Stunden (19 % aller Kliniken). Zur Kurzzeitsedierung unter 24 Stunden wird Ketamin nur von 7 %, in der Weaning-Phase nur bei 5 % der befragten Kliniken eingesetzt.

Ketamin wirkt dosisabhängig in einer subanästhetischen Dosierung ausschließlich analgetisch, eine höhere Dosierung bewirkt eine Somnolenz bis hin zu einer sogenannten dissoziativen Anästhesie. Aufgrund der psychomimetischen Wirkung kann die Kombination mit einem Benzodiazepin sowie gegebenenfalls einem Vagolytikum zur Salivationsreduktion erforderlich werden. Die vorrangigen Indikationen zum Einsatz von Ketamin sind die Analgosedierung von Patienten mit Bronchospasmus und die Beatmung von Patienten mit hypotensiver Kreislaufsituation aus nichtkardiogener Ursache. Aus der hirndrucksteigernden und der sympathomimetischen Wirkung ergeben sich Kontraindikationen bei allen Erkrankungen, die mit einem erhöhten intrakraniellen Druck einhergehen, sowie bei kardiogenem Schock oder akutem Myokardinfarkt (ANGELINI, 2001; SPIES, 2000).

Propofol ist das in Deutschland am häufigsten eingesetzte Medikament zur Kurzzeitsedierung bis 24 Stunden und im Weaning-Prozess. 81 % der befragten Kliniken setzten zur Sedierung bis 24 Stunden Propofol ein, im Sedierungsintervall zwischen 24 und 72 Stunden erfolgte der Einsatz bei 56 %, zur Sedierung von Patienten über 72 Stunden setzten 25 % der befragten Kliniken Propofol ein (MARTIN, 2004).

Propofol besitzt eine sedativ-hypnotische Komponente, jedoch keine analgetische Wirkung. Aus der Tatsache, dass das Medikament aufgrund seiner hohen Metabolisierungsrate und der über beliebige Applikationszeiten fast konstant kurzen kontext-sensitiven Halbwertszeit sehr gut steuerbar ist, erklärt sich seine Beliebtheit in der Anwendung bei kurzer und mittellanger Sedierung und in der Weaning-Phase. Ebenfalls von Vorteil in der klinischen Anwendung ist, dass es keine aktiven Metabolite bildet und kaum kumuliert (BELLER, 1988; FRENKEL, 1995). Eingeschränkt wird die Anwendung von Propofol durch die Gefahr der Entwicklung eines Propofol-Infusions-Syndromes, vor allem in Dosierungen größer 4 mg/kg KG/h und über einen Zeitraum länger als 48 Stunden. Mögliche Symptome sind Herzrhythmusstörungen, Herzversagen, Rhabdomyolyse, schwere metabolische Azidose und akutes Nierenversagen (VASILE, 2003).

## 4.5 Substanzspezifische Effekte der Anästhetika auf das Immunsystem

Die Studien werden in *in vivo*-, *in vitro*- und in tierexperimentelle Studien unterschieden und separat diskutiert.

### 4.5.1 *In vivo*-Studien

Leider existieren nur wenige *in vivo*-Studien, welche die Einflüsse von Ketamin und Propofol auf das Immunsystem und die Sekretion des Chemokins IL-8 genauer beleuchten. Dies liegt zum einen darin begründet, dass eine vorsätzliche Aktivierung des Immunsystems nicht im Sinne des Patienten bzw. Probanden wäre. Zum anderen lassen Studien an z. B. septischen beatmungspflichtigen Patienten, welche eine Sedierung erhalten, keine validen Aussagen zu, da die Störgrößen in ihrer Gesamtheit nicht auseinanderdividierbar sind. Faktoren wie Katecholamintherapie, Analgesie und zugrundeliegende Erkrankungen machen es unmöglich, eine einheitliche Patientengruppe zu definieren.

Eines der wenigen *in vivo*-Modelle, welche die Beobachtung einer relativ einheitlichen Gruppe erlaubt, stellen Studien über Patienten dar, welche sich Eingriffen mit Unterstützung der Herz-Lungen-Maschine unterziehen müssen. Die extrakorporale Zirkulation führt zu einer systemischen inflammatorischen Antwort des Körpers und ist damit ein gutes klinisches und ethisch zu rechtfertigendes Modell zur Untersuchung verschiedener Faktoren auf die Funktion des Immunsystems, insbesondere im Hinblick auf verschiedene Anästhesieverfahren.

#### 4.5.1.1 Immunmodulatorische Effekte von Propofol und Ketamin

Cao et al. untersuchten den Einfluss von Ketamin auf die durch kardiopulmonalen Bypass induzierte IL-6- und IL-8-Antwort. In der Phase der extrakorporalen Zirkulation zeigte sich in beiden Gruppen ein signifikanter Anstieg der Plasmakonzentrationen der Zytokine IL-6 und IL-8 im Vergleich zum Zeitpunkt vor dem Anschluss an die Herz-Lungen-Maschine. In der Patientengruppe, welche vor Beginn der Operation und vor Beginn der extrakorporalen Zirkulation 1 mg/kg KG Ketamin erhalten hatten, zeigte sich ein signifikant geringerer Anstieg der Spiegel von IL-6 und IL-8 als in der Kontrollgruppe (CAO, 2001).

Ebenfalls bei Bypass-Patienten untersuchten El-Azab et al. drei verschiedene Anästhesieverfahren hinsichtlich des Effekts auf die Zytokinproduktion. In der einen Gruppe wurde die Narkose mittels volatilem Anästhetikum (Sevofluran) eingeleitet und aufrechterhalten, die anderen beiden Gruppen wurden mit einer totalen intravenösen



Anästhesie narkotisiert, wobei entweder Propofol mit einer geringen Dosis Sufentanil oder Midazolam mit Sufentanil angewendet wurde. Vor Beginn der extrakorporalen Zirkulation (EKZ) war die IL-6-Konzentration in der Patientengruppe, welche volatile Anästhetika erhalten hatte, erhöht, nach Beendigung der EKZ sowie im weiteren postoperativen Verlauf ließen sich jedoch keine Unterschiede zwischen den drei Gruppen beobachten (EL-AZAB, 2002). Die zusätzliche Gabe von 0,25 mg/kg KG Ketamin zu einer Hochdosis-Fentanyl-Narkose bei elektiven Bypassoperationen senkte in einer anderen Studie bis zum 8. postoperativen Tag die IL-6-Konzentration im Serum (ROYTBLAT, 1998). Die selbe Arbeitsgruppe wies in einer Folgestudie nach, dass die Vorbehandlung mit einer niedrigen Dosis Ketamin die erhöhte Superoxidanionenproduktion von neutrophilen Granulozyten nach einer koronararteriellen Bypassoperation unterdrücken kann (ZILBERSTEIN, 2002).

In einer Studie an 40 elektiv operierten Patienten, welche postoperativ für mindestens 48 Stunden sediert wurden, untersuchten Helmy und Mitarbeiter den Einfluss von Propofol bzw. Midazolam auf die Zytokinproduktion. Im Vergleich zu den Konzentrationen vor Beginn der Sedierung konnte in der Propofolgruppe nach 48 Stunden eine Erhöhung der proinflammatorischen Zytokine IL-1 $\beta$ , IL-6 und TNF- $\alpha$  beobachtet werden, unter Sedierung mit Midazolam wurden diese Zytokine vermindert produziert. Beide Pharmaka zeigten eine verringerte IL-8-Konzentration im Vergleich zu den Werten vor der Infusion. Propofol steigerte des Weiteren die IFN- $\gamma$ -Konzentration und hemmte die Sekretion von IL-2. Midazolam scheint diese Zytokine nicht zu beeinflussen. Die proinflammatorisch gerichteten Effekte von Propofol in dieser klinischen Studie sind mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie gut vereinbar und unterstreichen die Bedeutung der immunmodulatorischen Wirkung von Anästhetika bei Langzeitanwendung in der Intensivmedizin (HELMY, 2001).

Zu anderen Ergebnissen kommen die folgenden beiden Studien. Corcoran et al. untersuchten an Patienten mit stabiler Angina Pectoris und normaler Ventrikelfunktion, welche sich einer koronararteriellen Bypassoperation unterzogen, die Auswirkungen von Propofol auf die Entzündungsantwort. Alle Patienten erhielten eine standardisierte Narkose mit Fentanyl und Isofluran. Eine Viertelstunde vor Reperfusion erhielt eine Patientengruppe eine kontinuierliche 4-stündige Propofolinfusion, die Kontrollgruppe erhielt in diesem Zeitraum Kochsalz. Gemessen wurden die Konzentration von Malondialdehyd (MDA) im großen Kreislauf und in den Koronarvenen sowie die Zytokine IL-4, IL-6, IL-8 und IL-10. Ebenfalls wurden Parameter der Leukozytenfunktionen, wie „respiratorischer burst“, Phagozytosefähigkeit und  $\beta_2$ -Integrinexpression, erfasst. Bezüglich der MDA-Konzentration im koronarvenösen Blut fanden sich in der Kontrollgruppe hohe Konzentrationen 10 Minuten

nach Reperfusion, in der Propofolgruppe war zu diesem Zeitpunkt kein MDA nachweisbar. Die IL-8-Konzentrationen stiegen 2 und 4 Stunden nach Reperfusion in der Kontrollgruppe an. IL-6-Konzentrationen waren nach 4 Stunden in der Kontrollgruppe größer als in der Propofolgruppe, bei einer durchschnittlichen Propofoldosis von 31,7 mg/kg KG während der Studiendauer. Die Autoren schließen daraus, dass Propofol in klinisch relevanten Konzentrationen den durch freie Radikale und inflammatorische Komponenten verursachten myokardialen Reperfusionsschaden dämpfen kann (CORCORAN, 2004).

Veränderungen in der Zahl zirkulierender Lymphozytensubpopulationen sowie eine verstärkte proinflammatorische Immunantwort durch Narkose mit Propofol und Fentanyl wurden von Brand et al. an 30 Patienten untersucht, welche sich kleineren elektiven orthopädischen Eingriffen unterzogen. Vor Narkosebeginn und 20 Minuten später, jedoch vor dem Beginn chirurgischer Maßnahmen, wurden Blutproben entnommen, mit LPS stimuliert und inkubiert. Es fand sich, im Vergleich zu den Proben vor Anästhetikagabe, eine signifikante Zunahme der TNF- $\alpha$ - und der IL-1 $\beta$ -Ausschüttung in den Blutkulturen, welche nach Narkoseeinleitung entnommen wurden. Ähnliche Ergebnisse wurden nach Stimulation mit Phytohemagglutinin (PHA) für Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) beobachtet. Im Gegenzug sank die Produktion des antiinflammatorischen Zytokins IL-10 in den mit LPS stimulierten Kulturen. Während der Narkose fand sich eine Abnahme der zirkulierenden Lymphozyten, in Form einer prozentualen Zunahme der T-Lymphozyten zugunsten der CD4-positiven Zellen und eine prozentuale Zunahme der B-Lymphozyten. Hinsichtlich der natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) zeigte sich eine signifikante Abnahme ihrer Zahl. Eine Narkose mit Propofol und Fentanyl scheint also eine proinflammatorische Immunantwort zu unterstützen und eine Veränderung der Zusammensetzung der Lymphozyten zu bewirken (BRAND 2003).

#### **4.5.1.2 Einfluss von Propofol und Ketamin auf das Gerinnungssystem**

Die *in vitro* beschriebenen Effekte von Propofol auf die Interaktion von Thrombozyten mit Leukozyten und Erythrozyten untersuchten Mendez et al. *in vivo* an chirurgischen Patienten. Die durch ADP, Kollagen und Arachnidonsäure induzierte Aggregation von Blutplättchen wurde im Vollblut, plättchenreichem Plasma (platelet-rich plasma, PRP), PRP mit roten Blutzellen und PRP mit Leukozyten getestet. Ebenfalls wurde die Produktion von Thromboxan (TX) B<sub>2</sub> durch Thrombozyten und die Synthese von 6-Keto-Prostaglandin-F<sub>1</sub>- $\alpha$ , einem stabilen Metaboliten von Prostacyclin, durch Leukozyten gemessen. Ebenso betrachtet wurden die Plasmakonzentrationen von Nitrat und Nitrit als ein Indikator der Produktion von

Stickstoffmonoxid (NO). Die Narkose wurde mit einem Bolus von 4 mg/kg KG Thiopental oder mittels eines Propofolbolus von 2,5 mg/kg KG eingeleitet oder mit einer kontinuierlichen Infusion von Propofol durchgeführt. Thiopental hatte keinen Einfluss auf die gemessenen Werte. Bei Patienten, welche einen Propofolbolus erhielten, fand sich eine signifikant reduzierte Plättchenaggregation im Vollblut und im PRP mit Leukozyten. Die Produktion von  $\text{TxB}_2$  war um 35 % reduziert, die Hemmung der 6-Keto-Prostaglandin- $\text{F}_{1-\alpha}$ -Produktion war nicht signifikant. Die Plasmakonzentrationen von Nitrit und Nitrat stiegen um 37 %, diese Veränderungen korrelierten mit einem Abfall des systolischen und diastolischen Blutdrucks. Ähnliche Veränderungen, nur in größerem Ausmaß, wurden bei Patienten beobachtet, welche eine kontinuierliche Infusion von Propofol erhielten. Als Schlussfolgerung kann gesagt werden, dass die Hemmung der Thrombozytenaggregation durch Propofol hauptsächlich auf einer Verminderung der Thromboxansynthese zu beruhen scheint und auf einer Zunahme der NO-Produktion. Diese Effekte werden schon von Dosierungen hervorgerufen, welche zur Narkoseeinleitung verwendet werden (MENDEZ, 2003).

An Patienten, welche sich einer koronararteriellen Bypassoperation unterzogen, untersuchten Schulze et al. den Einfluss von Propofol auf das Gerinnungssystem. Die Patienten wurden in dieser Studie in zwei Gruppen unterteilt. In einer Gruppe wurde die Narkose mittels Fentanyl und Midazolam durchgeführt, in der anderen wurde Propofol in Kombination mit Alfentanil benutzt. Zu festgelegten Zeitpunkten wurden prä-, intra- und postoperativ Blutproben entnommen, um den Einfluss der Anästhetika auf hämostaseologische Parameter zu erfassen. Ebenfalls wurde der Blutdruck in den beiden Gruppen miteinander verglichen. Vom Beginn der extrakorporalen Zirkulation bis zum Ende der Operation fanden sich signifikant höhere Faktor-XIIa- und Kallikrein-Aktivitäten in der Propofolgruppe im Vergleich zu Midazolam. Die Kallikrein-Hemmungskapazität und die Indikatoren der Fibrinolyse (t-PA und D-Dimere) deuteten auf eine stärkere Aktivierung des Gerinnungssystems in der Propofolgruppe während der Kontaktphase hin. Die hypotensiven Nebenwirkungen von Propofol waren ebenfalls im Vergleich zur Midazolamgruppe evident. Es kann also ein Zusammenhang zwischen der Gabe von Propofol, der Aktivierung des Kallikrein-Kinin-Bradykinin-Systems während der Kontaktphase und der beobachteten Hypotension gesehen werden (SCHULZE, 1999).

Fukuda verglich in einer *in vivo*-Studie an abdominalchirurgischen Patienten die hepatovenöse Sauerstoffsättigung hinsichtlich zweier Anästhesieverfahren, einer Narkose mit den inhalativen Narkotika Sevofluran und Isofluran sowie Propofol. Eine Gruppe erhielt Propofol und zur Analgesie über einen Peridural-Katheter Mepivacain, die anderen beiden Gruppen jeweils Isofluran und Sevofluran. Gemessen wurden die systemische

Sauerstoffextraktionsrate sowie die hepato-splanchnische-Extraktionsrate. Hinsichtlich der Kreislaufparameter wie Herzfrequenz, mittlerem arteriellen Druck und Herzindex zeigten sich keine Unterschiede in den drei Gruppen. Propofol bewirkte in Konzentrationen von 8 bis 10 mg/kg KG/h eine signifikante Reduktion der splanchniko-hepatischen-Sauerstoffsättigung und eine erhöhte systemische Sauerstoffextraktionsrate im Sinne eines gesteigerten Metabolismus und Sauerstoffverbrauchs in der Leber. Isofluran und Sevofluran hatten keinen Einfluss auf die gemessenen Parameter (FUKUDA, 2005).

<b>Autor</b>	<b>Studiendesign</b>	<b>Beobachtete Effekte</b>
Brand et al.	Elektive orthopädische Operation, Propofol/Fentanyl-Narkose, vor und nach Narkoseeinleitung Entnahme von Blutproben und Stimulation mit LPS und PHA	Erhöhte Konzentrationen von TNF- $\alpha$ und IL-1 $\beta$ sowie verminderte Konzentration von IL-10 nach Narkoseeinleitung und LPS-Stimulation; Erhöhung der IFN- $\gamma$ -Konzentration nach Narkose und PHA-Zugabe; Während Narkose Abnahme der zirkulierenden Lymphozyten, prozentuale Zunahme der CD4+- sowie B-Zellen, Abnahme der NK-Zellen
Cao et al.	Ketamin vs. Placebo vor koronarchirurgischer Operation mit extrakorporaler Blutzirkulation (EKZ)	Verminderter Anstieg von IL-6 und IL-8 im Serum der Ketamingruppe
Corcoran et al.	4-stündige Propofolinfusion vs. Placebo vor Reperfusionphase bei koronarchirurgischer Operation mit EKZ und Isofluran/Fentanylnarkose	Verminderte MDA-Konzentration 10 min nach Reperfusion in der Propofolgruppe, erhöhte IL-8- und IL-6-Konzentrationen 4 sowie 6 Stunden postoperativ in der Placebogruppe
El Azab et al.	Narkose mit Sevofluran vs. Propofol/Sufentanil vs. Midazolam vs. Sufentanil bei koronarchirurgischer Operation mit EKZ	Postoperativ keine Differenzen bezüglich der IL-6-Konzentration im Plasma
Fukuda et al.	Narkose mit Propofol+ Sevofluran/Isofluran vs. TIVA Propofol/+K-PDA Mepivacain	Unter Propofol TIVA signifikante Reduktion der splanchniko-hepatischen-Sauerstoffsättigung und eine erhöhte systemische Sauerstoffextraktionsrate
Helmy et al.	Propofol vs. Midazolam bei postoperativer Sedierung für mindestens 48 Stunden	In der Propofolgruppe nach 48 Stunden erhöhte Plasmaspiegel von TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 und IFN- $\gamma$ im Vergleich zu Midazolam, keine Unterschiede bezüglich IL-8

Mendez et al.	Chirurgische Patienten, Thiopental vs. Propofolbolus vs. Propofolinfusion	Signifikant reduzierte Plättchenaggregation sowie Zunahme der NO-Produktion in der Propofolgruppe, der Effekt einer kontinuierlichen Infusion war stärker als die Bolusgabe
Royblat et al.	Ketamin vs. Placebo vor koronarchirurgischer Operation mit EKZ	Verminderter Anstieg von IL-6 im Serum der Ketamingruppe
Schulze et al.	Midazolam/Fentanyl vs. Propofol/Alfentanil bei koronarchirurgischer Operation mit EKZ	Zum Zeitpunkt der EKZ höhere Faktor-XIIa- und Kallikrenin-Aktivitäten in der Propofolgruppe
Zilberstein et al.	Ketamin vs. Placebo vor koronarchirurgischer Operation mit EKZ	Verminderte Produktion von Superoxidanionen durch neutrophile Granulozyten in der Ketamingruppe

**Tab. 4.1 Übersicht über die zitierten klinischen Studien**

#### 4.5.2 *In vitro*-Studien

##### 4.5.2.1 Untersuchungen an isolierten Zellen

Bereits 1995 berichteten Gonzales et al., dass Ketamin die NO-abhängige cGMP-Produktion in kultivierten zerebralen Neuronen hemmt (GONZALES, 1995). Die Beeinflussung der Endothelfunktion wurde von Zahler et al. in einer Studie beleuchtet. Kultivierte menschliche Nabelschnurvenenendothelzellen wurden in An- und Abwesenheit von Ketamin mit TNF- $\alpha$  stimuliert und dann die Expression der Adhäsionsmoleküle ICAM-1 und E-Selectin mittels Durchflusszytometrie bestimmt. Die Konzentrationen von IL-6 und IL-8 wurden ebenfalls gemessen. TNF- $\alpha$  bewirkte eine erhebliche Hochregulation der Adhäsionsmoleküle sowie einen signifikanten Anstieg der IL-6- und IL-8-Konzentrationen. Ketamin hingegen hatte keinen Einfluss auf die Aktivität der Endothelzellen. Die Überstände der Zellkulturen wurden mit PMN-Zellen in Verbindung gebracht. Es ließ sich eine Aktivierung der Leukozyten durch den Überstand nachweisen, messbar anhand der Expression von CD11b (70 % Zunahme); diese wurde aber durch Kontakt der Leukozyten mit Ketamin (0,5 mM und 5 mM) gedämpft (47 % bzw. 44 % Zunahme der CD11b-Expression). Diese Daten lassen den Schluss zu, dass die antiinflammatorischen Eigenschaften von Ketamin primär durch Hemmung der Leukozytenaktivität erfolgen müssen (ZÄHLER, 1999). Im Gegensatz zu dieser Studie betrachtet eine Arbeit von Chen et al. einen anderen Aspekt der Endothelfunktion, das NO-cGMP-System, welches gerade auch bei inflammatorischen Prozessen eine wichtige Rolle in

der Genese der Vasoplegie spielt. An Endothelzellen aus menschlichen Umbilicalvenen, die mit unterschiedlichen Konzentrationen von Ketamin inkubiert wurden, konnte demonstriert werden, dass Ketamin in therapeutischen Dosierungen die NO-Biosynthese reduziert. Des Weiteren zeigte sich in folgenden Untersuchungen, dass die NO-Synthesehemmung nicht nur auf einer prätranslationalen Inhibition der eNOS-Expression beruht, sondern auch auf einer  $\text{Ca}^{2+}$ -abhängigen posttranslationalen Reduktion der eNOS-Aktivität. Es wurde in dieser Studie erstmals nachgewiesen, dass der ketaminassoziierte Anstieg des mittleren arteriellen Druckes zumindest partiell auf eine Hemmung der eNOS-Aktivität zurückzuführen ist (CHEN, 2005). In einer Studie mit der Mäuse-Makrophagen-Zelllinie Raw 264.7 untersuchten Chang et al. den Einfluss von Ketamin auf die Makrophagenfunktion und ihre möglichen Mechanismen. Konzentrationen von 10-100  $\mu\text{M}$  Ketamin hatten keinen Einfluss auf die LDH-Freisetzung, die chemotaktischen Fähigkeiten und auf Zelluntergang. Diese Konzentrationen entsprechen einer 0,1–1-fachen klinisch üblichen Dosis. Eine Konzentrationserhöhung auf 1000  $\mu\text{M}$  resultierte in einer LDH-Ausschüttung, reduzierter Migration und Zelltod. Ketamin alleine hatte keinen Einfluss auf die TNF- $\alpha$ -, IL-1 $\beta$ - sowie IL-6-mRNA-Spiegel. Jedoch zeigten sich nach Zugabe von LPS signifikant reduzierte mRNA-Spiegel der untersuchten Zytokine in klinisch gebräuchlichen Konzentrationen. Ebenfalls zeigte sich eine Reduktion des mitochondrialen Membranpotentials (CHANG, 2005). Dieselbe Arbeitsgruppe untersuchte bereits zwei Jahre zuvor den Effekt von Propofol auf die Funktion derselben Makrophagenzelllinie. Klinisch übliche Konzentrationen hatten keinen Einfluss auf das Zellüberleben, ab der zehnfachen klinisch üblichen Konzentration zeigten sich jedoch eine verstärkte LDH-Ausschüttung, ein Verharren in der G1/S-Phase der Zellteilung und ein gehäufter Zelltod. Nach einer Stunde traten signifikant reduzierte, dosisabhängige chemotaktische und oxidative Fähigkeiten auf. Diese Effekte waren jedoch nur zum ersten Messzeitpunkt nachzuweisen, im weiteren Verlauf nach 6 sowie 24 Stunden waren die suppressiven Effekte teilweise bis komplett aufgehoben. Propofol scheint also die Phagozytentätigkeit dosis- sowie zeitabhängig zu beeinflussen. LPS induzierte in den Makrophagen die IFN- $\gamma$ -mRNA-Produktion, welche ebenfalls von Propofol gehemmt wurde. Das Membranpotential der Mitochondrien sowie die ATP-Spiegel wurden ebenfalls durch das Anästhetikum reduziert (CHEN, 2003).

Mit dem Einfluss von Propofol und Midazolam auf isolierte menschliche polymorphkernige Leukozyten (PBMC) befassten sich Galley et al. Die Zellen wurden mit Lipopolysaccharid (LPS) und verschiedenen Konzentrationen Propofol und Midazolam für 20 Stunden inkubiert. Es wurden sowohl IL-8-Protein in den Zellkulturüberständen und im Zelllysate, als auch die

Menge an IL-8-mRNA bestimmt. Die LPS-induzierte extrazelluläre IL-8-Akkumulation wurde sowohl durch Propofol als auch durch Midazolam gehemmt. Hinsichtlich der intrazellulären IL-8-Konzentration zeigte sich eine durch LPS induzierte Steigerung, welche sich im Gegensatz zur extrazellulären Menge des Chemokins in Anwesenheit der Anästhetika nicht veränderte. Northern-Blot-Analysen wiesen gesteigerte IL-8-mRNA-Spiegel in den Zellen in Anwesenheit der Anästhetika auf. Diese Daten lassen vermuten, dass die untersuchten Substanzen den zellulären Transport oder die Sekretion des IL-8-Proteins beeinflussen (GALLEY, 1998).

Den Einfluss der Anästhetika Propofol, Ketamin, Midazolam und Thiopental auf die chemotaktischen und Exozytose-Fähigkeiten der Mastzellen beleuchteten Fujimoto et al.. Thiopental, Midazolam und Propofol übten dosisabhängig einen hemmenden Effekt auf die chemotaktischen Fähigkeiten der Zellen aus. Ketamin, Propofol und Midazolam hemmten die Mastzellendegranulation (FUJIMOTO, 2005).

Nach einer Studie von Osaka et al. hat Propofol einen Einfluss auf den Ropivacainmetabolismus in Lebermikrosomen. Der Stoffwechsel von Ropivacain und der von Lidocain werden von verschiedenen Isoformen des Cytochrom P450-Enzymsystems gesteuert. In früheren Studien zeigte sich bereits eine Hemmung des Lidocainstoffwechsels durch Propofol, welche sich auch für Ropivacain nachweisen ließ, es kam dosisabhängig zu einer Hemmung des Metabolismus des Lokalanästhetikums (OSAKA, 2006).

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss von Propofol und Ketamin auf die durch TNF- $\alpha$  und IL-6 stimulierte IL-8-Sekretion der Leberzelle betrachtet. Modell war eine HepG2-Zellkultur. TNF- $\alpha$  bewirkte eine signifikante Steigerung der IL-8-Ausschüttung, IL-6 hatte keinen Einfluss auf die Chemokinsekretion. Ketamin hatte in diesem Modell zu keinem Zeitpunkt einen Einfluss auf die IL-8-Sekretion der HepG2-Zelle, weder hinsichtlich der basalen IL-8-Sekretion, noch nach Stimulation mit IL-6 und TNF- $\alpha$ .

Bezüglich der Beeinflussung der IL-8-Sekretion durch Propofol zeigte sich eine Zunahme der IL-8-Sekretion nach Inkubation mit Propofol, sowohl hinsichtlich der basalen Sekretion als auch nach Stimulation mit TNF- $\alpha$ . Nach Inkubation mit IL-6 fand sich, im Vergleich zur basalen Sekretion, keine signifikante Zunahme der IL-8 Sekretion. Propofol bewirkte jedoch trotzdem eine signifikante Zunahme der Sekretion, vergleichbar mit der Zunahme der basalen IL-8-Sekretion ohne Zugabe von IL-6. Die beobachteten Effekte waren unabhängig von dem Lösungsmittel Lipovenös. Zwischen der einfachen und der zehnfachen Propofol- sowie Ketamindosierung zeigten sich im Zellkulturansatz keine signifikanten Unterschiede.

Vergleiche mit den zitierten Studien sind schwierig, da es sich in der Mehrzahl um Kulturen von Blutzellen und Endothelkulturen handelt. Die Ergebnisse der Studie von Galley et al. widersprechen denen dieser Arbeit, jedoch werden dort isolierte PBMC-Zellen betrachtet, ein Vergleich mit HepG2-Zellen ist sicherlich nicht ohne weiteres möglich. Nach Fujimoto et al. findet sich für Propofol ebenfalls ein antiinflammatorischer Effekt für Propofol, jedoch liegt auch hier kein vergleichbarer Gewebstyp vor. Zusammenfassend kann also gesagt werden, dass die Vergleichbarkeit der zitierten *in vitro*-Studien mit der vorliegenden Arbeit schwierig ist, für HepG2-Zellen liegen keine dem Autor bekannte Untersuchungen bezüglich der Modifikation der IL-8-Ausschüttung durch Anästhetika vor.

<b>Autor</b>	<b>Studiendesign</b>	<b>Beobachtete Effekte</b>
Chang et al.	Raw 264.7-Zellen, 10–1000 $\mu$ M Ketamin, Zugabe von LPS	Nach Zugabe von LPS signifikant niedrigere TNF- $\alpha$ -, IL-1 $\beta$ - sowie IL-6-mRNA-Spiegel; Ketaminkonzentration von 1000 $\mu$ M resultierte in einer LDH-Ausschüttung, reduzierter Migration und Zelltod
Chen et al.	Endothelzellen humaner Umbilikalvenen, Zugabe von Ketamin	Dosisabhängige, prätranslationale Inhibition der eNOS-Expression und posttranslationale Reduktion der eNOS-Aktivität, Reduktion der intrazellulären Kalziumkonzentration, keine zelltoxischen Effekte bis 100 $\mu$ mol Ketamin
Chen et al.	Raw 264.7-Zellen, verschiedene Propofolkonzentrationen, Zugabe von LPS	Ab der zehnfachen klinisch üblichen Propofolkonzentration verstärkte LDH-Ausschüttung, ein Verharren in der G1/S-Phase der Zellteilung und ein gehäufter Zelltod; nach einer Stunde dosisabhängig signifikant reduzierte, chemotaktische und oxydative Fähigkeiten, welche im Verlauf nach 24 Stunden fast komplett aufgehoben sind
Fujimoto et al.	Mastzellen, Propofol vs. Ketamin vs. Midazolam vs. Thiopental	Dosisabhängig hemmender Effekt von Thiopental, Midazolam und Propofol auf die chemotaktischen Fähigkeiten der Zellen; Ketamin, Propofol und Midazolam hemmten die Mastzellendegranulation



Galley et al.	Humane polymorphkernige Leukozyten (PBMC), Propofol vs. Midazolam, Stimulation mit LPS	Hemmung der LPS-induzierten extrazellulären IL-8-Akkumulation sowie gesteigerte intrazelluläre IL-8-mRNA-Spiegel durch Propofol und Midazolam
Gonzales et al.	Kultivierte zerebrale Neuronen, Vorbehandlung mit Ketamin, Zugabe von NMDA und NMDA-Analoga	Reduktion der cGMP-Produktion in der Ketamingruppe
Osaka et al.	Ropivacainmetabolismus in Lebermikrosomen, Zugabe von Propofol	Dosisabhängig zeigt sich eine Hemmung des Metabolismus des Lokalanästhetikums
Zahler et al.	Endothelzellen humaner Umbilikalvenen, Inkubation mit Ketamin und Stimulation mit TNF- $\alpha$ ; Inkubation der Zellkulturüberstände mit PMN-Zellen	Kein Einfluss von Ketamin auf die TNF- $\alpha$ -induzierte Upregulation der Adhäsionsmoleküle ICAM-1 und E-Selectin sowie auf den Anstieg der IL-6- und IL-8-Konzentrationen; jedoch Dämpfung der CD11b-Expression durch PMN-Zellen wegen des Überstands der mit Ketamin inkubierten Kulturen

**Tab. 4.2: Übersicht über die zitierten *in vitro*-Studien**

#### 4.5.2.2 Untersuchungen im Vollblut

##### 4.5.2.2.1 Immunmodulatorische Effekte von Propofol und Ketamin im Vollblut

Im Vollblutansatz untersuchten Kawasaki et al. den Einfluss von Ketamin auf die Produktion proinflammatorischer Zytokine. Nach Zugabe verschiedener Konzentrationen Ketamin zum Vollblut wurde dieses mit LPS und rekombinantem humanem TNF- $\alpha$  stimuliert, nach Inkubation wurden die Aktivität von TNF- $\alpha$  sowie die Konzentrationen von IL-6 und IL-8 gemessen. Es zeigte sich, dass Ketamin ab Konzentrationen über 20  $\mu\text{g/ml}$  die LPS-induzierte TNF- $\alpha$ -Produktion signifikant hemmte. Ab Konzentrationen größer 100  $\mu\text{g/ml}$  hemmte Ketamin außerdem signifikant sowohl die LPS-induzierte als auch die TNF- $\alpha$ -induzierte IL-6- und IL-8-Produktion (KAWASAKI, 1999).

Die Untersuchung der Effekte von S(+)-Ketamin und S(-)-Ketamin auf Staphylokokken-Endotoxin-B-induzierte TNF- $\alpha$ -, IL-6- und IL-8-Produktion im Vollblut ergab, neben keinen nachweisbaren Unterschieden zwischen S(+)- und S(-)-Ketamin, eine dosisabhängige Abnahme der Zytokinproduktion. Ab Konzentrationen größer 50  $\mu\text{M}$  zeigte sich eine geringere Produktion von TNF- $\alpha$ . Eine Abnahme der IL-6-Ausschüttung war ab

Ketaminkonzentrationen größer 100 µM nachzuweisen, eine Abnahme der Menge an IL-8 ab Konzentrationen größer 500 µM (KAWASAKI, 2001). In der vorliegenden Arbeit konnte zwar ebenfalls eine gesteigerte IL-8-Sekretion durch Stimulation mit LPS sowie TNF-α dokumentiert werden, jedoch fand sich nur ein statistisch signifikanter Rückgang der basalen IL-8-Sekretion durch Ketamin im Gegensatz zu den Studien von Kawasaki.

In einer Arbeit von Hoff et al. war es ebenfalls möglich zu zeigen, dass die TNF-α-Expression im Vollblut nach Stimulation mit Escherichia coli-Endotoxin unter der Anwesenheit von Ketamin um 53 % im Vergleich zur Kontrolle abnahm, während die Anwesenheit von Propofol eine Zunahme der TNF-α-Produktion um 44 % bewirkte. Diese Effekte fanden sich im Falle von Propofol bereits bei Konzentrationen, welche bei einer Narkoseeinleitung benutzt werden, der Einfluss von Ketamin auf die TNF-α-Produktion zeigte sich dagegen erst in höheren Konzentrationen. Die Halbwertszeit der TNF-α-mRNA war hierbei unverändert (HOFF, 2001).

Die Zytokinproduktion, die Adhäsion von Neutrophilen am Endothel sowie die Ausschüttung von Sauerstoffradikalen sind Schlüsselereignisse im Verlauf einer Sepsis und während einer Ischämie. Eine Studie von Weigand et al. untersuchte den Einfluss von Ketamin auf die Expression von CD18, CD62L und die Sauerstoffradikalproduktion von Neutrophilen in vitro. Ebenfalls betrachtet wurde die IL-6-Produktion im mit Endotoxin stimulierten Vollblut. Demnach hemmt Ketamin konzentrationsabhängig sowohl die N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanin- als auch die Phorbol-12-Myristat-13-Acetat- induzierte Hochregulation von CD18 und das Abwerfen von CD65L. Ferner zeigte sich eine signifikant erniedrigte Produktion freier Sauerstoffradikale durch isolierte neutrophile Granulozyten. Im Vollblut konnte eine Hemmung der durch Endotoxin stimulierten IL-6-Produktion nachgewiesen werden. Die Hemmeffekte waren sowohl für das Racemat als auch für seine Isomere S(+)- und R(-)-Ketamin nachweisbar (WEIGAND, 2000).

Eine Hemmung der LPS-stimulierten IL-6- und IL-10-Produktion fand sich in einer Studie an aus dem Blut von gesunden Probanden isolierten PBMCs. In dieser Versuchsreihe stimulierten Takano et al. die über einen Dichtegradienten aufgereinigten Zellen mit LPS und inkubierten sie für 20 Stunden mit verschiedenen Konzentrationen an Propofol (0,5 µg/ml, 5 µg/ml, 50 µg/ml), Thiopental (2 µg/ml, 20 µg/ml, 200 µg/ml), Ketamin (0,3 µg/ml, 3 µg/ml, 30 µg/ml) und Midazolam (0,015 µg/ml, 0,15 µg/ml, 1,5 µg/ml). Nach der Inkubationszeit wurden IL-6 und IL-10 mittels ELISA-Methode bestimmt. In den mit Propofol stimulierten Ansätzen zeigten sich eine signifikant reduzierte IL-6- sowie IL-10-Produktion. Thiopental bewirkte eine relevante Steigerung der IL-10-Produktion bis zu einer Konzentration von 20

µg/ml. Midazolam verursachte in einer Konzentration von 1,5 µg/ml eine deutliche Suppression der IL-6-Produktion (TAKANONO, 2002).

Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu anderen Studien: Bei Burdash und Leon ließ sich bei mit LPS stimulierten PBMCs nach Zugabe von Propofol und Thiopental keine Änderung der IL-6-Sekretion nachweisen (BURDASH, 1993), Larsen et al. fanden, dass niedrige Propofolkonzentrationen die LPS-induzierte TNF- $\alpha$ -Produktion im Vollblut verstärken, während pharmakologische Konzentrationen Ketamin und Thiopental diese reduzieren. Zusätzlich ließ sich für Propofol, Thiopental und Etomidat eine reduzierte Expression des LPS-Erkennungsmoleküls CD14 nachweisen. Ebenfalls bewirkten laut dieser Studie diese Anästhetika eine reduzierte IL-10-Sekretion (LARSEN, 1998).

In der vorliegenden Arbeit ließ sich im Vollblutansatz sowohl nach sechs als auch nach zwölf Stunden eine signifikante Steigerung der IL-8-Sekretion sowohl durch TNF- $\alpha$  als auch durch LPS nachweisen. LPS war im Vergleich zu TNF- $\alpha$  der deutlich stärkere Induktor der IL-8-Ausschüttung. Ketamin bewirkte hinsichtlich der basalen IL-8-Sekretion eine signifikante Erniedrigung. Zwischen der einfachen- sowie der zehnfachen Konzentration des Anästhetikums war jedoch kein signifikanter Unterschied nachweisbar. Nach Stimulation mit TNF- $\alpha$  sowie LPS war keine statistisch signifikante Veränderung durch die untersuchten Anästhetika mehr nachweisbar. Dies steht im Gegensatz zu den von Kawasaki et al. durchgeführten Versuchen mit Vollblut in welchen sich signifikante Veränderungen der stimulierten IL-8 Sekretion durch Ketamin zeigten. Die anderen zitierten Studien hatten nicht IL-8 als Marker der Immunantwort, jedoch zeigt sich bei der Mehrheit der Studien eine Hemmung der Produktion proinflammatorischer Zytokine im Vollblut durch Ketamin wohingegen Propofol zu einer verstärkten Produktion zu führen scheint.

#### **4.5.2.2.2 Beeinflussung des Gerinnungssystems durch Propofol und Ketamin**

Neben dem Einfluss auf immunkompetente Zellen wurden auch die Einflüsse von Anästhetika auf Erythrozyten und Thrombozyten untersucht. Im Hinblick darauf studierte Reinhart den Einfluss von Propofol auf die Viskosität des Blutes und auf die Aggregation von Erythrozyten und Thrombozyten. Hierzu wurde Vollblut gesunder Probanden mit Propofol in steigenden Konzentrationen (0 bis 500 µg/ml Plasma) inkubiert und die Viskosität des Vollblutes, des Plasmas, die Erythrozytenmorphologie und die Thrombozytenaggregation ermittelt. Dieselben Parameter wurden jeweils *in vivo* bei Patienten gemessen, welche eine Narkose mit Propofol erhielten. Im *in vitro*-Versuchsansatz zeigte sich eine leichte, dosisabhängige, seeigelartige

Transformation, die auf eine bevorzugte Interaktion des Medikaments mit der äußeren Schicht der Zellmembran hinweist. Die Viskosität von Vollblut und Plasma wurde nicht beeinflusst. Im *in vivo*-Versuch konnte keine Veränderung der Erythrozytenmorphologie gesehen werden, es zeigte sich jedoch eine verminderte Viskosität sowohl des Vollbluts als auch des Plasmas gegen Ende der Narkose. Dies kann allerdings auch mit der Verdünnung des Plasmas durch Infusionen während der Narkose in Verbindung gebracht werden. Hinsichtlich der Thrombozytenaggregation zeigte sich sowohl im *in vitro*- als auch im *in vivo*-Versuch eine reduzierte Aggregation (REINHART, 2003).

Der Einfluss von Propofol und seinem Lösungsmittel Lipovenös auf die Interaktion aktivierter Thrombozyten und Leukozyten stand im Vordergrund einer Studie von de Rossi et al. Von sechzehn gesunden Probanden wurde Vollblut gewonnen und eine Stunde auf der einen Seite mit Propofol (4 und 40 µg/ml), auf der anderen Seite als Kontrolle mit einer entsprechenden Menge Lipovenös 10 % sowie phosphat-gepufferter Kochsalzlösung (PBS) inkubiert. Mittels Durchflusszytometrie wurden nach Stimulation mit ADP (Adenosin-5-diphosphat) die Thrombozyten-Leukozyten-Adhäsion sowie die Expression von P-Selectin, GP Ib und Fibrinbindung der Plättchen gemessen. In der 4 µg/ml-Konzentration von Propofol ließ sich keine Veränderung der Parameter im Vergleich zu den Kontrollen messen. Die mit 40 µg/ml inkubierten Ansätze zeigten jedoch im Vergleich zu den Kontrollen eine reduzierte spontane und ADP-induzierte Bildung von Thrombozyten-Leukozyten-Konjugaten; ebenfalls zeigte sich eine Hemmung der Bindung von ADP-aktivierten Plättchen an Monozyten. Die Inkubation mit Propofol hatte auch eine reduzierte Bindung von Fibrinogen sowohl in unstimulierten als auch in ADP-stimulierten Proben an Plättchen zur Folge. Es fand sich zudem ein prozentual niedrigerer Anteil an Thrombozyten mit gebundenem Fibrinogen. Das Lösungsmittel Lipovenös bewirkte im Vergleich zu Propofol (40 µg/ml) und PBS eine eher verstärkte Bindung von Plättchen an Monozyten. Zusammenfassend lässt sich nach dieser Studie sagen, dass Propofol in klinisch verwandten Konzentrationen keinen Einfluss auf die Adhäsion von Leukozyten und Plättchen *in vitro* zu haben scheint, jedoch in der 10fachen Konzentration eine Abnahme der Bildung von Plättchen-Neutrophilen- und Plättchen-Monozyten-Konjugaten bewirkt, unabhängig von seinem Lösungsmittel Lipovenös. Dieser Effekt beruht wahrscheinlich auf einer Hemmung der Fibrinogenbindung von Thrombozyten durch Propofol (de ROSSI, 2003).

<b>Autor</b>	<b>Studiendesign</b>	<b>Beobachtete Effekte</b>
Burdash et al.	PBMC; Propofol vs. Thiopental; Stimulation mit LPS	keine Änderung der IL-6-Sekretion in beiden Gruppen nachweisbar
de Rossi et al.	Vollblut, Propofol vs. Lipovenös vs. Kontrolle	In klinisch verwandten Propofolkonzentrationen kein Einfluss auf die Adhäsion von Leukozyten und Plättchen in vitro, jedoch in der 10fachen Konzentration Abnahme der Bildung von Plättchen-Neutrophilen- und Plättchen-Monozyten-Konjugaten, unabhängig Lösungsmittel Lipovenös
Hoff et al.	Vollblut; Propofol vs. Ketamin, Stimulation mit Escherichia coli-Endotoxin	Dosisabhängige Abnahme der TNF- $\alpha$ -Expression in der Ketamingruppe, Zunahme der TNF- $\alpha$ -Expression in der Propofolgruppe bei klinisch üblichen Konzentrationen; Halbwertszeit der TNF- $\alpha$ -mRNA unverändert
Kawasaki et al.	Vollblut; Ketamin vs. Kontrolle, Stimulation mit LPS und TNF- $\alpha$	Ketaminkonzentrationen über 20 $\mu$ g/ml hemmen LPS-induzierte TNF- $\alpha$ -Produktion; ab Konzentrationen größer 100 $\mu$ g/ml zusätzlich Hemmung der LPS- und TNF- $\alpha$ -induzierten IL-6- und IL-8-Produktion
Kawasaki et al.	Vollblut; S(+)- und S(-)-Ketamin, Zugabe von Staphylokokken-Endotoxin-B	Keine nachweisbaren Unterschiede zwischen S(+)- und S(-)-Ketamin; dosisabhängige Abnahme der TNF- $\alpha$ -, IL-6- und IL-8-Produktion
Larsen et al.	Vollblut; Propofol vs. Ketamin vs. Thiopental vs. Etomidat, Stimulation mit LPS	Niedrige Propofolkonzentrationen verstärken, pharmakologische Ketamin- und Thiopentalkonzentrationen reduzieren die LPS-induzierte TNF- $\alpha$ -Produktion im Vollblut; Propofol, Thiopental und Etomidat bewirken reduzierte CD14-Expression sowie reduzierte IL-10-Sekretion
Reinhart et al.	Propofolnarkose, Vollblutansätze im In vivo- und In vitro-Versuch	Sowohl im In vitro- als auch im In vivo-Versuch reduzierte Thrombozytenaggregation
Takano et al.	PBMC; Propofol vs. Ketamin vs. Thiopental vs. Midazolam; Stimulation mit LPS	In der Propofolgruppe signifikant reduzierte IL-6- sowie IL-10-Produktion; Steigerung der IL-10-Produktion durch Thiopental; in der Midazolamgruppe deutliche Suppression der IL-6-Produktion

Weigand et al.	Vollblut, Stimulation mit Endotoxin; neutrophile Granulozyten, Stimulation mit N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanin und Phorbol-12-Myristat-13-Acetat	Dosisabhängige Hemmung sowohl der N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanin- als auch der Phorbol-12-Myristat-13-Acetat-induzierten Hochregulation von CD18 und Abwerfen von CD65L und Produktion freier Radikale in Neutrophilen; Hemmung der durch Endotoxin stimulierten IL-6-Produktion im Vollblut
----------------	---	--

**Tab. 4.3: Übersicht über die zitierten Studien an Vollblut**

#### 4.5.2.3 Versuche am Tiermodell

Bereits in den 1980er Jahren wurde von Modig nach experimentell erzeugter Escherichia-coli-Sepsis sowie von Worek et al. nach Pseudomonas-aeruginosa-Sepsis bei Schweinen eine Verbesserung der Überlebensraten durch Ketamin beobachtet (MODIG, 1987; WOREK, 1988).

Bei mit verschiedenen Konzentrationen an Ketamin (0,5 / 5 / 50 mg/kg KG) anästhesierten Ratten untersuchten Sun et al. in Leber, Lunge und Darm die TNF- $\alpha$ -Expression und die Aktivität des Transkriptionsfaktors NF- $\kappa$ B. Im Darmgewebe kam es bereits bei Konzentrationen von 0,5 mg/kg KG zu einer signifikanten Hemmung der TNF- $\alpha$ -Expression und einer Abnahme der NF- $\kappa$ B-Aktivität. Ab Konzentrationen von 5 mg/kg KG zeigte sich im Lungengewebe ebenfalls eine Hemmung der TNF- $\alpha$ -Expression und der NF- $\kappa$ B-Aktivität. Im Lebergewebe hingegen war keine Hemmung bei Konzentrationen bis 50 mg/kg KG zu beobachten, hingegen war sogar eine Verstärkung der Aktivität der TNF- $\alpha$ -Expression und der NF- $\kappa$ B-Aktivierung messbar (SUN, 2004).

Ebenfalls in einer Studie an Ratten teilten Taniguchi et al. 32 männliche Tiere in vier Gruppen ein: Eine Gruppe erhielt intravenös Escherichia-coli-Endotoxin (15 mg/kg KG über 2 min), die Kontrollgruppe wurde mit Kochsalzlösung statt Endotoxin behandelt, die Propofolgruppe wurde genauso wie die Kontrollgruppe behandelt, nur erhielten die Tiere zusätzlich Propofol (10 mg/kg KG als Bolus, gefolgt von kontinuierlicher Infusion von 10 mg/kg KG/h), und eine Gruppe erhielt neben Propofol auch Endotoxin. Gemessen wurden Kreislaufparameter, Säure-Basen-Haushalt, Plasma-Propofolspiegel und die Konzentrationen verschiedener Zytokine. Ebenfalls wurde Lungengewebe histologisch untersucht. Herzfrequenz und systolischer Blutdruck der Propofol-Endotoxingruppe waren denen der Endotoxingruppe ähnlich. Der Anstieg der Plasmazytokine IL-6, IL-10 und TNF- $\alpha$ , das Basendefizit und die

Leukozyteninfiltration in den Alveolarraum und Gefäßwände waren in der Propofol-Endotoxingruppe geringer als in der Endotoxingruppe. Hieraus schließen die Autoren, dass Propofol die Zytokinantwort, das Basendefizit und die Aktivierung von Neutrophilen dämpft und somit die inflammatorische Antwort und die Entwicklung einer metabolischen Azidose während einer Endotoxinämie hemmt (TANIGUCHI, 2003).

Ähnliche Ergebnisse fanden sich bei Versuchen von Gao et al., welche die protektive Wirkung von Propofol auf die durch Endotoxin verursachte Lungenschädigung nachzuweisen versuchten. Sie teilten ebenfalls Ratten in Gruppen ein: in eine Kontrollgruppe, in eine Gruppe, die Endotoxin erhielt (LPS 8 mg/kg KG), in eine Gruppe, die eine Stunde vor der Behandlung mit Endotoxin Propofol (Bolus 5 mg/kg KG und kontinuierliche Infusion von 10 mg/kg KG) erhielt, in eine Gruppe, die Propofol und Endotoxin gleichzeitig erhielt, und schließlich in eine Gruppe, in welcher die Tiere eine Stunde nach Propofolinjektion Endotoxin erhielten. Arterielle Sauerstoffpartialdrücke (paO<sub>2</sub>) wurden ebenso wie pH-Wert, mittlerer arterieller Druck (MAP) und Überlebensrate aufgezeichnet. Die Plasmakonzentrationen von TNF- $\alpha$  und Stickstoffmonoxid wurden 5 Stunden nach LPS-Injektion gemessen. Nach Tötung der Ratten bestimmte man im Lungengewebe die Expression der induzierbaren Stickstoffmonoxid-Synthetase (iNOS) und Nitrotyrosin (NT), die Aktivität der Myeloperoxidase (MPO), Malondialdehyd (MDA), das wet-to-dry-Lungengewichtverhältnis (W/D) und den Pulmonalen Permeabilitätsindex (PPI). Verglichen mit der Endotoxingruppe verbesserten sich sowohl die mit Propofol vorbehandelte als auch die simultan behandelte Gruppe hinsichtlich paO<sub>2</sub>, pH, MAP und 5-Stunden-Überlebensrate. Die durch Endotoxin induzierte gesteigerte Expression von iNOS und NT, die Aktivität von MPO, die MDA-Spiegel im Gewebe wurden gedämpft. Es fand sich weiterhin ein niedrigeres pulmonalvaskuläres Leck, und die Plasmakonzentrationen von TNF- $\alpha$  und NO waren ebenfalls niedriger als in der Endotoxingruppe. Diese protektiven Effekte waren bei den Tieren, welche Endotoxin eine Stunde vor Propofolinfusion erhielten, nicht nachweisbar (GAO, 2003).

Takao et al. wiesen an Kaninchen einen protektiven Effekt einer Propofolinfusion auf das durch Endotoxin verursachte akute Lungenversagen im Rahmen einer Sepsis nach (TAKAO, 2005).

Auch Ketamin scheint im Tiermodell einen protektiven Einfluss auf das LPS-induzierte akute Lungenversagen zu haben. Yang et al. teilten Ratten in sechs Gruppen ein: eine Kontrollgruppe, eine Gruppe, die mit Endotoxin (5 mg/kg KG) behandelt wurde, drei Gruppen, in denen die Tiere sowohl mit Endotoxin als auch mit Ketamin (0,5 mg/kg, 5 mg/kg

und 50 mg/kg KG) behandelt wurden, und eine Gruppe, der nur Ketamin (50 mg/kg KG) injiziert wurde. Gemessen wurden TNF- $\alpha$ , IL-6 und NF- $\kappa$ B im Lungengewebe nach zwei Stunden. Die Myeloperoxidase-Aktivität (MPO) und der Feuchtigkeitsgehalt der Lunge wurden 6 Stunden später untersucht. Intravenöse Applikation von Endotoxin führte zu einem Lungenschaden, welcher sich in einer Zunahme der MPO-Aktivität, des Feuchtigkeitsgehalts und der TNF- $\alpha$ -, IL-6- und NF- $\kappa$ B-Expression niederschlug. Ketamin vermochte in einer Dosierung von 5 mg/kg und 50 mg/kg KG die Endotoxin-induzierte NF- $\kappa$ B-Aktivierung zu hemmen, ab einer Dosis von 50 mg/kg KG fanden sich zusätzlich eine verminderte TNF- $\alpha$ - und IL-6- Produktion, reduzierte MPO-Aktivität und ein reduzierter Feuchtigkeitsgehalt der Lunge. Die protektiven Effekte zeigten sich also nur in klinisch nicht gebräuchlichen Dosierungen von Ketamin (YANG, 2005). Shaked et al. wiesen bei Ratten mit E.-coli-Sepsis nach Ketamingabe ebenfalls signifikant erniedrigte IL-6- und TNF- $\alpha$ -Serumspiegel gegenüber unbehandelten Kontrolltieren nach. Die 7-Tage-Überlebensrate (57 % vs. 27 %) war ebenfalls signifikant erhöht (SHAKED, 2004). In einer aktuellen Studie bestätigten Gurfinkel et al., dass die Gabe von Ketamin bei Ratten mit Verbrennungen und nachfolgender E.-coli-Sepsis zu signifikant niedrigeren IL-6-Konzentrationen und einer verbesserten 7-Tage-Überlebensrate (46 % vs. 13 %) führt (GURFINKEL, 2006).

Nach Takenaka kann Ketamin die LPS-Toxizität, die vorwiegend über die TNF- $\alpha$ -Expression vermittelt wird, in einem Mausmodell hemmen (TAKENAKA, 1994). Ein ähnliches Ergebnis konnten Kogab und Mitarbeiter an Ratten nachweisen. Ketamin reduzierte hier zusätzlich dosisabhängig den durch Endotoxinschock hervorgerufenen Leberzellschaden und damit auch die Mortalität (KOGAB, 1995). Auch die Arbeitsgruppe von Taniguchi konnte im Rattenmodell zeigen, dass die Vorbehandlung mit Ketamin sowohl die Endotoxin-vermittelte Hypotension und metabolische Azidose aufheben, als auch die Produktion der Zytokine TNF- $\alpha$  und IL-6 hemmen kann. Wird Ketamin erst zwei Stunden nach Injektion des Endotoxins gegeben, sind diese Effekte wesentlich schwächer ausgeprägt (TANIGUCHI, 2001). Suliburk et al. konnten ebenfalls einen protektiven Effekt von Ketamin in einem Sepsismodell an Ratten nachweisen. Die Tiere zeigten im Rahmen einer Anästhesie mit Ketamin im Gegensatz zu einer Narkose mit Isofluran nach Gabe von LPS eine Reduktion des Anstiegs der Alanin-Amino-Transferase und der Aspartat-Amino-Transferase im Serum. Ferner zeigte sich eine Dämpfung des Anstiegs von COX-2, iNOS und NF- $\kappa$ B im Lebergewebe der Tiere. Ketamin scheint dieser Studie zufolge bei Ratten einen hepatoprotektiven Effekt zu haben, ausgehend von einer Reduktion der COX-2 und iNOS, welche durch NF- $\kappa$ B reguliert sein könnten (SULIBURK, 2005). Auch Beobachtungen von Schmidt et al. unterstützen in einem



Sepsismodell bei Ratten die Hypothese, dass Ketamin antiinflammatorische Eigenschaften besitzt. Die durch Endotoxin gesteigerte Leukozytenadhärenz konnte durch Ketamingabe reduziert werden (SCHMIDT, 1995).

<b>Autor</b>	<b>Studiendesign</b>	<b>Beobachtete Effekte</b>
Worek et al.	Schweine mit Pseudomonas-aeruginosa-Sepsis, Ketamin vs. Phenobarbital	Steigerung der mittleren Überlebenszeit in der Ketamin-gruppe
Modig et al.	Schweine mit E.-coli-Sepsis und Kontrollgruppe, Ketamin vs. Metomidat	Verbesserte 6-Stunden-Überlebensrate in der Ketamin-gruppe
Sun et al.	Ratten, verschiedene Ketamindosierungen (0,5 / 5 / 50 mg/kg KG)	Im Darmgewebe bei Konzentrationen von 0,5 mg/kg KG signifikante Hemmung der TNF- $\alpha$ -Expression sowie Abnahme der NF- $\kappa$ B-Aktivität; ab Konzentrationen von 5 mg/kg KG im Lungengewebe Hemmung der TNF- $\alpha$ -Expression und der NF- $\kappa$ B-Aktivität; im Lebergewebe verstärkte Aktivität der TNF- $\alpha$ -Expression und der NF- $\kappa$ B-Aktivierung
Taniguchi et al.	Ratten mit E.-coli-Sepsis, Propofol vs. Kontrolle	IL-6, IL-10 und TNF- $\alpha$ , das Basendefizit und die Leukozyteninfiltration in Alveolarraum und Gefäßwände in der Propofol-Endotoxingruppe geringer als in der Endotoxingruppe
Taniguchi et al.	Ratten mit E.-coli-Sepsis, Zugabe von Ketamin in verschiedenen Dosierungen	Dosisunabhängige Minderung von arterieller Hypotension, metabolischer Azidose, IL-6- und TNF- $\alpha$ -Plasmaspiegel
Gao et al.	Ratten, Gabe von LPS sowie Propofol vs. Kontrollen	Verbesserte 5-Stunden-Überlebensrate sowie niedrigere NO- und TNF- $\alpha$ -Plasmakonzentrationen in der mit Propofol vorbehandelten Gruppe
Takao et al.	Kaninchen, Sepsismodell, Propofol vs. Kontrolle	protektiver Effekt von Propofol-infusion auf das durch Endotoxin verursachte akute Lungenversagen
Yang et al.	Ratten, verschiedene Ketamindosierungen, Zugabe von Endotoxin	Hemmung der NF- $\kappa$ B-Aktivierung durch Ketamindosierung von 5 mg/kg und 50 mg/kg KG, ab Dosis von 50 mg/kg zusätzlich verminderte TNF- $\alpha$ - und IL-6- Produktion, reduzierte MPO-Aktivität und reduzierter Feuchtigkeitsgehalt der Lunge
Takenaka et al.	Mäuse, Gabe von Endotoxin sowie Ketamin vs. Placebo	Hemmung der TNF- $\alpha$ -Expression

Kogab et al.	Ratten, Gabe von Endotoxin und Ketamin	Ketamin bewirkt dosisabhängige Reduktion des durch Endotoxinschock hervorgerufenen Leberzellschadens und damit auch der Mortalität
Taniguchi et al.	Ratten, E.-coli-Sepsis, Zugabe von Ketamin	Dosisunabhängige Minderung von arterieller Hypotension, metabolischer Azidose, IL-6- und TNF- $\alpha$ -Plasmaspiegel
Suliburk et al.	Ratten, Gabe von LPS, Ketamin vs. Isofluran	Reduktion des Anstiegs der Alanin-Amino-Transferase und der Aspartat-Amino-Transferase im Serum sowie Dämpfung des Anstiegs der COX-2, iNOS und NF- $\kappa$ B im Lebergewebe
Shaked et al.	Ratten, E.-coli-Sepsis, Ketamin vs. Placebo	Verminderte IL-6- und TNF- $\alpha$ -Plasmaspiegel, verbesserte 7-Tage-Überlebensrate
Schmidt et al.	Ratten, E.-coli-Endotoxinämie, Ketamin vs. Placebo	Verminderung der Leukozytenadhärenz
Gurfinket et al.	Ratten mit Verbrennung und nachfolgender E.-coli-Sepsis, Ketamin vs. Placebo	Niedrigere IL-6-Konzentrationen und verbesserte 7-Tage-Überlebensrate in der Ketamingruppe

**Tab. 4.4: Übersicht über die zitierten tierexperimentellen Studien**

#### 4.6 Zusammenfassung

Anästhetika beschränken sich in ihrer Wirkung nicht auf die Sedierung und Hypnose, sondern üben zudem auf verschiedene weitere Systeme des menschlichen Organismus Einfluss aus. Neben der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Beeinflussung einer Funktion der Immunantwort durch Propofol und Ketamin kommt es auch in anderen Geweben zu einer Veränderung der jeweiligen Funktion. Dies macht es zudem schwierig, eine Aussage über den Effekt auf den Gesamtorganismus zu treffen, da die Versuchsansätze meist artifizielle Systeme darstellen. Die Übertragbarkeit in den klinischen Alltag auf kritische Kranke ist aufgrund der multiplen exogenen und endogenen Einflüsse zumindest sehr erschwert. Die Ergebnisse der Tierversuche zeigen im Vergleich zu den am Menschen gewonnenen Erkenntnissen, dass sie mit Vorsicht zu interpretieren sind im Hinblick auf die Unterschiede zwischen Tier und Mensch und ihren oft konträren Ergebnissen im Vergleich zum Menschen. Vorhandene Unterschiede im Metabolismus und der Expression verschiedener Gene stellen die Übertragbarkeit auf den Menschen gerade im Hinblick auf die Komplexität des Geschehens in Frage.

Bezüglich des Immunsystems und der Immunantwort zeigten die *in vivo*-Versuche am Menschen nach bzw. unter Propofolinfusion eine Erhöhung der Plasmakonzentrationen proinflammatorischer Zytokine. Betrachtet wurde meist die Veränderung der IL-6- und TNF- $\alpha$ -Konzentration. Propofol führt ebenfalls zu einer Veränderung der Zusammensetzung der Lymphozyten und beeinflusst die Funktion von Thrombozyten. Im Gegensatz dazu zeigt sich nach Gabe von Ketamin eine deutliche Reduktion der proinflammatorischen Zytokine. Hinsichtlich der IL-8-Sekretion konnte auch in der vorliegenden Arbeit im Vollblutansatz eine signifikante Erniedrigung der basalen IL-8-Ausschüttung durch Ketamin gemessen werden. Auf die stimulierte IL-8-Ausschüttung ließ sich allerdings keine signifikante Beeinflussung nachweisen. Jedoch zeigen die Ergebnisse des Vollblutansatzes dieser Arbeit eine gewisse hemmende Wirkung von Ketamin auf die Sekretion von IL-8, wenngleich nicht so deutlich wie in den zitierten anderen Studien.

Durch *in vitro*-Untersuchungen sowie tierexperimentelle und klinische Studien konnten verschiedene antiinflammatorische Effekte von Ketamin nachgewiesen werden. Dabei handelt es sich insbesondere um die verminderte Freisetzung proinflammatorischer Mediatoren, wie TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 und dem Transkriptionsfaktor NF- $\kappa$ B. Von Bedeutung scheint zudem der Zeitpunkt der Ketamingabe zu sein: Die Vorbehandlung bzw. die frühzeitige Therapie mit Ketamin in der experimentellen Sepsis scheint zu weniger ausgeprägten Zytokinanstiegen und zu deutlichen Überlebensvorteilen gegenüber späteren Applikationen zu führen. Kritisch für die klinische Anwendung muss die Beeinträchtigung der Mikrozirkulation durch Hemmung der eNOS-Aktivität gesehen werden, gerade weil im Rahmen von SIRS/Sepsis der mikrovaskuläre Blutfluss bereits empfindlich gestört ist.

Für Propofol gibt es Studien, welche eine Zunahme der TNF- $\alpha$ -Produktion beobachten. Hinsichtlich der IL-8-Sekretion konnte in der vorliegenden Arbeit in der HepG2-Zellkultur durch Vorinkubation mit Propofol eine signifikante Steigerung sowohl der basalen, als auch der stimulierten IL-8-Ausschüttung gemessen werden. Dies steht im Einklang mit den meisten Studien, welche einen proinflammatorischen Effekt von Propofol nachweisen konnten.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass Ketamin in der Mehrzahl der verschiedenen Studien einen antiinflammatorischen Effekt zu haben scheint, wohingegen Propofol eher eine Verstärkung der Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine zu bewirken scheint. Die Übertragbarkeit der Studienergebnisse, sowohl der eigenen wie auch der zitierten anderen Arbeiten, in den klinischen Alltag ist jedoch aufgrund des höchst komplexen Zusammenspiels der Komponenten des Immunsystems sowie der Veränderungen im Stoffwechsel kritisch Kranker im Zuge der Multiorgan dysfunktion nur sehr eingeschränkt möglich.

## Literaturverzeichnis

1. ACCP/SCCM Consensus Conference Committee (1992) Definition for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit Care Med. 20(6): 864-874
2. Adams HA, Hempelmann G (1991) Die endokrine Streßreaktion in Anästhesie und Chirurgie – Ursprung und Bedeutung. Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 26: 294-305
3. Adams HA, Schmitz CS, Balthes-Götz B (1994) Endokrine Streßreaktion, Kreislauf- und Aufwachverhalten bei totaler intravenöser und Inhalationsanästhesie: Propofol versus Isofluran. Anaesthesist 43: 730-737
4. Aggarwal BB, Natarajan K (1996) Tumor necrosis factors: developments during the last decade. Eur Cytokine Netw 7: 93-124
5. Altemeyer KH, Schmitz JE, Seeling W, Ahnefeld FW (1986) Der posttraumatische Stoffwechsel als Grundlage einer sinnvollen Ernährungstherapie. aus Eckart J: Anästhesie, Intensivmedizin, Ernährung; Bd 57
6. Angelini G, Ketzler JT, Coursin DB (2001) Use of propofol and other nonbenzodiazepine sedatives in the intensive care unit. Crit Care Clin. 17: 863-80
7. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J et al. (2001) Epidemiology of severe sepsis in the United States: Analysis of incidence, outcome and associated costs. Crit Care Med 29: 1303-1310
8. Angus DC, Wax RS (2001) Epidemiology of sepsis: an update. Crit Care med 29 (Suppl 7): S117-S120
9. Ayala A, Perrin MM, Kisala JM, Ertel W, Chaudry IH (1992) Polymicrobial sepsis selectively activates peritoneal but not alveolar macrophages to release inflammatory mediators (interleukins-1 and -6 and tumor necrosis factor). Circ Shock 36: 191-199
10. Baenkler HW (1995) Medizinische Immunologie. 1-5 Regulation der Immunantwort. Ecomed Landsberg
11. Barton BE (1997) IL-6: Insights into novel biological activities. Clin Immunol Immunopathol 85: 16-20
12. Baumann H, Jahreis GP, Sauder DN, Koj A (1984) Human keratinocytes and monocytes release factors which regulate the synthesis of major acute phase plasma proteins in hepatic cells from man, rat, and mouse. J Biol Chem. 259: 7331-42
13. Beal AL, Cerra FB (1994) Multiple organ failure syndrome in the 1990s: Systemic inflammatory response and organ dysfunction. JAMA 271: 226-233

14. Becker BF (1999) *Cardiovasc. Res* 41(3):511-3JC; *Br J Anaesth* 1988 Nov;61(5): 583-8
15. Beilin B, Shavit Y, Hart J, Mordashov B, Cohn S, Notti I, Bessler H (1996) Effects of anesthesia based on large versus small doses of fentanyl on natural killer cell cytotoxicity in the perioperative period. *Anesth Analg* 82: 492-497
16. Beller JP, Pottecher T, Lugnier A, Mangin P, Otteni JC (1988) Prolonged sedation with propofol in ICU patients: recovery and blood concentration changes during periodic interruptions in infusion. *Br J Anaesth*. Nov;61(5): 583-8
17. Bernard GR et al (2001) Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *New Eng J Med* 344: 699-709
18. Bohana-Kashtan O, Ziporen L, Donin N, Kraus S, Fishelson Z (2004) Cell signals transduced by complement. *Molecular Immunology* 41: 583-597
19. Bone RC (1996) Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. *Crit Care Med* 24: 1125-1128
20. Bone RC, Fisher CJ, Jr., Clemmer TP (1989) Sepsis syndrome: A valid clinical entity. *Crit Care Med* 17(5): 389-393
21. Bone RC, Balk RA, Cerra FB et al. (1992) Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. The American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest* 101/6: 1644-1655
22. Brand JM, Frohn C, Luhm J, Kirchner H, Schmucker P (2003) Early alterations in the number of circulating lymphocyte subpopulations and enhanced proinflammatory immune response during opioid-based general anesthesia. *Shock* 20: 213-7
23. Cao DQ, Chen YP, Zou DQ (2001) Effects of ketamine on cardiopulmonary bypass-induced interleukin-6 and interleukin-8 response and its significance *Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao*. Aug 28;26(4): 350-2
24. Cerra FB (1987) Hypermetabolism, organ failure and metabolic support. *Surgery* 101: 1-14
25. Chang Y, Chen TL, Sheu JR, Chen RM (2005) Suppressive effects of ketamine on macrophage functions. *Toxicol Appl Pharmacol*. 204(1): 27-35
26. Chen RM, Chen TL, Lin YL, Chen TG, Tai YT (2005) Ketamine reduces nitric oxide biosynthesis in human umbilical vein endothelial cells by down-regulating endothelial nitric oxide synthase expression and intracellular calcium levels. *Crit Care Med* 1044-9

27. Chen RM, Wu CH, Chang HC, Wu GJ, Lin YL, Sheu JR, Chen TL (2003) Propofol suppresses macrophage functions and modulates mitochondrial membrane potential and cellular adenosine triphosphate synthesis. *Anesthesiology* 98(5): 1178-8
28. Chensue SW (2001) Molecular machinations: chemokine signals in host-pathogen interactions. *Clin Microbiol Rev* 14: 821-835
29. Chuntharapai A, Kim KJ (1995) Regulation of the expression of IL-8 receptor A/B by IL-8: possible functions of each receptor. *J Immunol.* 155: 2587-94
30. Cocoran TB, Engel A, Sakamoto H, O'Callaghan-Enright S, O'Donnell A, Heffron JA, Shorten G (2004) *J Cardiothorac Vasc Anesth* 18: 592-604
31. Dahn MS, Mitchell RA, Lange PM, Smitz SS, Jacobs LA (1995) Hepatic metabolic response to injury and sepsis. *Surgery* 117: 520-530
32. De Rossi L, Wessiepe M, Buhre W, Kuhlen R, Hutschenreuter G, Rossaint R (2003) Effect of propofol on adhesion of activated platelets to leukocytes in human whole blood. *Intensive Care Med.* 29: 1157-63
33. Decker K. (1990) Biologically active products of stimulated liver macrophages (Kupffer cells). *Eur J Biochem.* 11;192(2): 245-61
34. Diago MC, Amado JA, Otero M, Lopez-Cordovilla JJ (1988) Anti-adrenal action of a subanaesthetic dose of etomidate. *Anaesthesia* 43: 644-645
35. El-Ani D, Zimlichman R, Mashiach Y, Shainberg A (2007) Adenosine and TNF- $\alpha$  exert similar inotropic effect on heart cultures, suggesting a cardioprotective mechanism against hypoxia. *Life Sci.* Aug 19: 81(10)803-13
36. El Azab SR, Rosseel PM, De Lange JJ, Van Wijk EM, Van Strik R, Scheffer GJ (2002) Effect of VIMA with sevoflurane versus TIVA with propofol or midazolam-sufentanil on the cytokine response during CABG surgery. *Eur J Anaesthesiol* 19: 276-282
37. Fourrier F, Chopin C, Goudemand J, Hendrycx S, Caron C, Rime A, Marey A, Lestavel P (1992) Septic shock, multiple organ failure, and disseminated intravascular coagulation. Compared patterns of antithrombin III, protein C, and protein S deficiencies *Chest.* Mar;101(3): 816-23
38. Fourrier F, Chopin C, Huart JJ, Runge I, Caron C, Goudemand J (1993) Double-blind, placebo-controlled trial of antithrombin III concentrates in septic shock with disseminated intravascular coagulation. *Chest* 104: 882-8
39. Fragen RJ, Shanks CA, Molteni A, Avram MJ (1984) Effects of etomidate on hormonal responses to surgical stress. *Anesthesiology* 61: 652-656

40. Frenkel C, Schüttler J, Ihmsen H, Heye H, Rommelsheim K (1995) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of propofol/alfentanil infusions for sedation in ICU patients. *Intensive Care Medicine* 21: 981-8
41. Fresenius M, Heck M (2005) *Repititorium Intensivmedizin* 341-359 Springer, Heidelberg
42. Fujimoto T, Nishivama T, Hanaoka K (2005) Inhibitory effects of intravenous anesthetics on mast cell function. *Anaesth. Analg* 101: 1054-9
43. Fukuda I, Uchihashi Y, Kira M, Ogura T, Shizukuishi M, Kazama T, Sugiura Y; Masui (2005) Effects of propofol on hepatic venous oxygen saturation – a comparison with isoflurane or sevoflurane anesthesia. *Masui* 54: 736-41
44. Fukuda I, Uchihashi Y, Kira M, Ogura T, Shizukuishi M, Kazama T, Sugiura Y (2005) Effects of propofol on hepatic venous oxygen saturation – a comparison with isoflurane or sevoflurane anesthesia *Masui*. Jul;54(7): 736-41
45. Gasperini S, Calzetti F, Laudanna C, Vicentini L, Olsen H, Murphy M, Liao F, Farber J, Cassatella MA (1999) Gene Expression and Production of the Monokine Induced by IFN- $\gamma$  (MIG), IFN-Inducible T Cell  $\alpha$  Chemoattractant (I-TAC), and IFN- $\gamma$ -Inducible Protein-10 (IP-10) Chemokines by Human Neutrophils *The Journal of Immunology*, 1999, 162: 4928-4937
46. Galley HF, Dimatteo MA, Webster NR (2000) Immunomodulation by anaesthetic sedative and analgesic agents: Does it matter? *Intensive Care Med* 26: 267-274
47. Galley HF, Dubbels AM, Webster NR (1998) The effect of midazolam and propofol on interleukin-8 from human polymorphonuclear leukocytes. *Anaesth Analg*. 86: 1289-93
48. Gao J, Zeng B, Zhou L (2003) The protective effects of early treatment with propofol on endotoxin-induced acute lung injury in rats. *Middle East J Anaesthesiol*. 17: 379-401
49. George JM, Reier CE, Lanese RR, Rower JM (1974) Morphine anesthesia blocks cortisol and growth hormone response to surgical stress in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 38: 736-741
50. Gonzales JM, Loeb AL, Reichard PS, Irvine S (1995) Ketamine inhibits glutamate-, N-methyl-D-aspartate-, and quisqualate-stimulated cGMP production in cultured cerebral neurons. *Anesthesiology* 82(1): 205-13
51. Gurfinkel R, Czeiger D, Douvdevani A, Shapira Y, Artru AA, Sufaro Y, Mazar J, Shaked G (2006) Ketamine improves survival in burn injury followed by sepsis in rats. *Anesth Analg*. 103(2): 396-402

52. Hauschildt S, Kleine B (1995) Bacterial stimulators of macrophages. *Int. Rev. Cytol.* 161: 263-331
53. Hawker F (1991) Liver dysfunction in critical illness. *Anaesth Intensive Care* 19: 165-81
54. Helmy SA, Al-Attayah RJ (2001) The immunomodulatory effects of prolonged intravenous infusion of propofol versus midazolam in critically ill patients. *Anaesthesia* 56: 4-8
55. Hoff G, Bauer I, Larsen B, Bauer M (2001) Modulation of endotoxin-stimulated TNF- $\alpha$  gene expression by ketamine and propofol in cultured human whole blood. *Anaesthesist* 50: 494-9
56. Hotchkiss R, Karl I (2003) The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med* 348: 138
57. Hotchkiss RS, Karl IE (2003) The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med.* 348(2): 138-50
58. Hotchkiss RS, Tinsley KW, Karl IE (2003) Role of apoptotic cell death in sepsis. *Scand J Infect Dis.* 35: 585-92
59. Hotchkiss RS, Tinsley KW, Karl IE (2003) Role of apoptotic cell death in sepsis. *Scand J Infect Dis.* 35(9): 585-92
60. Janeway A., Travers P. (1997) *Immunologie 2. Auflage*, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg
61. Jie Sun, Feng Li, Jing Chen, Jingou Xu (2004) Effect of ketamine on NF-kappa B activity and TNF-alpha production in endotoxin-treated rats. *Annals of Clinical and Laboratory Science* 34: 181-186
62. Jungermann K (1989) Regulation of liver functions by autonomic hepatic nerves *Naturwissenschaften* 76: 547-59
63. Jungermann K, Katz N (1989) Functional specialization of different hepatocyte populations. *Physiol Rev.* 69: 708-64
64. Kawasaki C, Kawasaki T, Ogata M, Koichinoh N, Shigematsu A (2001) Ketamine isomers suppress superantigen-induced proinflammatory cytokine production in human whole blood. *Canadian Journal of Anaesthesia* 48: 819-823
65. Kawasaki T, Ogata M, Kawasaki C, Ogata J, Inoue Y, Shigematsu A (1999) Ketamine suppresses proinflammatory cytokine production in human whole blood in vitro. *Anaesth Analg.* 89: 665-9



66. Kehlet H (1982) The modifying effect of general and regional anesthesia on the endocrine metabolic response to surgery. *Regional Anesthesia* 7: S39-S48
67. Kehlet H (1988) The stress response to surgery: release mechanisms and the modifying effect of pain relief. *Acta Chir Scand Suppl* 550: 22-28
68. Keller SE, Weiss JM, Schleifer SJ, Miller NE, Stein M (1981) Suppression of immunity by stress: effect of a graded series of stressors on lymphocyte stimulation in the rat. *Science* 213: 1397-1400
69. Kieft H, Hoepelman AI, Zhou W, Rozenberg-Arska M, Struyvenberg A, Verhoef J (1993) The sepsis syndrome in a dutch university hospital. Clinical observations. *Arch Int Med* 153: 2241-2247
70. Koga K, Ogata M, Takenaka I, Matsumoto T, Shigematsu A (1995) Ketamine suppresses tumor necrosis factor- $\alpha$  activity and mortality in carrageenan-sensitized endotoxin shock model. *Circ Shock* 44: 160-168
71. Koj A (1985) Cytokines regulating acute inflammation and synthesis of acute phase proteins. *Blut* 51: 267-74
72. Kushner I (1982) The phenomenon of the acute phase response. *Ann N Y Acad Sci.* 389: 39-48
73. Lambert A, Frost J, Mitchell R, Robertson WR (1986) On the assessment of the in vitro biopotency and site(s) of action of drugs affecting adrenal steroidogenesis. *Ann Clin Biochem* 23: 225-229
74. Larsen B, Hoff G, Wilhelm W, Buchinger H, Wanner GA, Bauer M (1998) Effect of intravenous anesthetics on spontaneous and endotoxin-stimulated cytokine response in cultured human whole blood. *Anesthesiology* 89(5): 1218-27
75. Laudenslager ML, Ryan SM, Drugan RC, Hyson RL, Maier SF (1983) Coping and immunosuppression: inescapable but not escapable shock suppresses lymphocyte proliferation. *Science* 221: 568-570
76. Lenz K (2006) *Intensivmed* 43: 29-36
77. Le Gall JR, Lemeshow S, Leleu G, Klar J, Huillard J, Rue M, Teres D, Artigas A (1995) Customized probability models for early severe sepsis in adult intensive care patients. Intensive Care Unit Scoring Group. *JAMA* 273: 644-650
78. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G; SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS (2003) 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med.* 31: 1250-6

79. Levy O, Jean-Jacques RM, Cywes C, Sisson RB, Zarembek KA, Godowski PJ, Christianson JL, Guttormsen HK, Carroll MC, Nicholson-Weller A, Wessels MR (2003) Critical role of the complement system in group B streptococcus-induced tumor necrosis factor alpha release. *Infect Immun.* 71: 6344-53
80. Liszewski MK, Atkinson JP (1998) Novel complement inhibitors. *Expert Opin Investig Drugs* 7: 323-31
81. Liszewski MK, Kemper C, Price JD, Atkinson JP (2005) Emerging roles and new functions of CD46. *Springer Semin Immunopathol.* 27: 345-58
82. Liszewski MK, Post TW, Atkinson JP (1991) Membrane cofactor protein (MCP or CD46): newest member of the regulators of complement activation gene cluster. *Annu Rev Immunol.* 9: 431-55
83. Livingston DH, Mosenthal AC, Deitch EA (1995) Sepsis and multiple organ dysfunction syndrome: a clinical-mechanistic overview. *New Horizons* 3: 257-266
84. Loppnow H (2001) Zytokine: Klassifikation, Rezeptoren, Wirkungsmechanismen. *Internist* 42: 13-27
85. Martin J, Schleppers A, Fischer K, Junger A, Klöss T, Schwilk B, Pützhofen G, Bauer M, Krieter H, Reinhardt K, Bause H, Kuhlen R, Heinrichs W, Buchardi H, Waydhas C (2004) *Anästhesie und Intensivmedizin* 25: 207-16
86. Martin MA (1991) The respiratory distress syndrome in adults with gram-negative sepsis. In: Vincent JL (ed) *Update in intensive care and emergency medicine*, 14. Springer Heidelberg New York Tokio, S 182-191
87. Marzi I (1994) The significance of the liver for the course of SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome) following shock, trauma and during sepsis. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther.* 29: 41-6
88. Marzi I, Bauer M, Reisdorf E, Walcher F (1994) Involvement of platelet activating factors in pathologic leukocyte-endothelium interactions in the liver after hemorrhagic shock. *Zentralbl Chir.* 119: 814-21
89. McBride WT, Armstrong MA, Crockard AD, McMurray TJ, Rea JM (1995) Cytokine balance and immunosuppressive changes at cardiac surgery: contrasting response between patients and isolated CPB circuits. *Br J Anaesthesia* 75: 724-733
90. McCuskey RS, Reilly FD (1993) Hepatic microvasculature: dynamic structure and its regulation *Semin Liver Dis.* 13(1): 1-12

91. Mendez D, De la Cruz JP, Arrebola MM, Guerrero A, Gonzalez-Correa JA, Garcia-Temboury E, Sanchez de la Cuesta F (2003) The effect of propofol on the interaction of platelets with leukocytes and erythrocytes in surgical patients. *Anaesth Analg* 96 : 713-9
92. Modig J (1987) Positive Effekt of ketamine v. metomidate anaesthesia on cardiovascular function, oxygen delivery and survival. Studies with a porcine endotoxin model. *Acta Chir Scand* 153: 7-13
93. Muckart DJ, Bhagwanjee S (1997) American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine consensus definitions of the systemic inflammatory response syndrome and allied disorders in relation to critically injured patients. *Crit Care Med* 25/11: 1789-1795
94. Naito Y, Tamai S, Shingu K, Shindo K, Matsui T, Segawa H, Nakai Y, Mori K (1992) Responses of plasma adrenocorticotrophic hormone, cortisol, and cytokines during and after upper abdominal surgery. *Anesthesiology* 77: 426-431
95. Osaka Y, Inomata S, Tanaka E, Nakemura T, Honda K, Mivabe M, Tovoooka H, Tanaka M (2006) Effect of propofol on ropivacaine metabolism in human liver microsomes. *J Anesth* 20: 60-3
96. Osawa Y, Nagaki M (2002) Tumor Necrosis Factor Alpha-Induced Interleukin-8 Production via NfkappaB and Phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt Pathway inhibits Cell Apoptosis in Human Hepatocytes. *Infection and Immunity* 6294-6301
97. Osuchowski MF, Welch K, Siddiqui J, Remick DG (2006) Circulating cytokine/inhibitor profiles reshape the understanding of the SIRS/CARS continuum in sepsis and predict mortality *J Immunol.* 177(3): 1967-74
98. Pangbum MK, Muller-Eberhardt HJ (1986) The C3 convertase of the alternative pathway of human complement. Enzymic properties of the bimolecular proteinase. *Biochem J.* 235(3): 723-30
99. Pittet D, Rangel-Frausto S, Li N et al. (1995) Systemic inflammatory response syndrome, sepsis, severe sepsis and septic shock: incidence, morbidities and outcome in surgical ICU patients. *Intensive Care Med* 21/4: 202-309
100. Reinhart K, Brunkhorst FM, Bone HG, Gerlach H, Gründling M, Kreyman G, Kujath P, Marggraf G, Mayer K, Meier-Hellmann A, Peckelsen C, Putensen C, Quintel M, Ragaller M, Rossaint R, Stüber F, Weiler, N, Welte T, Werdan K (2006): Diagnose und Therapie der Sepsis. S-2 Leitlinien der Deutschen Sepsis-Gesellschaft e.V. (DSG) und der Deutschen Interdisziplinären Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin (DIVI) *Intensivmed* 43: 369-384

101. Reinhart WH, Felix CH (2003) Influence of propofol on erythrocyte morphology, blood viscosity and platelet function. *Clin Hemorheol Microcirc.* 29: 33-40
102. Reithmann C, Werdan K (1994) Tumor necrosis factor  $\alpha$  decreases inositol phosphate formation and phosphatidylinositol-bisphosphate (PIP<sub>2</sub>) in rat Cardiomyocytes. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 349: 175-182
103. Rosenkilde MM, Schwartz TW (2004) The chemokine system – a major regulator of angiogenesis in health and disease. *APMIS.* 112: 481-95
104. Roytblat L, Talmor D, Rachinsky M (1998) Ketamine attenuates the interleukin-6 response after cardiopulmonary bypass. *Anaesth Analg* 87: 266-271
105. Roytblat L, Talmor D, Rachinsky M, Greemberg L, Pekar A, Appelbaum A, Gurman GM, Shapira Y, Duvdenani A (1998) Ketamine attenuates the interleukin-6 response after cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg* 87: 266-271
106. Salvo I, de Cian W, Musicco M (1995) The Italia SEPSIS Study: Preliminary results on the incidence and evolution of SIRS, sepsis, severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Med* 21 (Suppl 2): S244-S249
107. Sands KE, Bates DW, Lanken PN et al. (1997) Epidemiology of sepsis syndrome in 8 academic medical centers. Academic Medical Center Consortium Sepsis Project Working Group. *JAMA* 278/3: 234-240
108. Schmidt H, Ebeling D, Bauer H, Bach A, Bohrer H, Gebhard MM, Martin E (1995) Ketamine attenuates endotoxin-induced leukocyte adherence in rat mesenteric venules. *Crit Care Med.* 23(12): 2008-14
109. Schulze HJ, Wendler HP, Kleinhans M, Oehmichen S, Heller W, Elert O (1999) Effects of the propofol combination anesthesia on the intrinsic blood-clotting system. *Immunopharmacology* 43: 141-4
110. Shaked G, Czeiger D, Dukhno O, Levy I, Artru AA, Shapira Y, Douvdevani A (2004) Ketamine improves survival and suppresses IL-6 and TNF $\alpha$  production in a model of Gram-negative bacterial sepsis in rats. *Resuscitation* 62(2): 237-42
111. Sheron N, Goka J, Wendon J, Keays R, Keane H, Alexander G, Williams R (1990) Highly elevated plasma cytokines in fulminant hepatic failure: correlations with multiorgan failure and death (abstr). *Hepatology* 12: 939A
112. Sklar LS, Anisman H (1979) Stress and coping factors influence tumor growth. *Science* 205: 513-515
113. Smedsrod B, Pertoft H, Eggertsen G, Sundstrom C (1985) Functional and morphological characterization of cultures of Kupffer cells and liver endothelial cells

- prepared by means of density separation in Percoll, and selective substrate adherence. *Cell Tissue Res.* 241(3): 639-49
114. Snel JJ (1903) Immunität und Narkose. *Berlin Klin Wochenschr* 40: 212
  115. Spies C, Vincent JL, Dossow von V (2000) *J Anästhesi Intensivbeh* 7: 2006-9
  116. Stuber E, Strober W (1996) The T cell-B cell interaction via OX40-OX40L is necessary for the T cell-dependent humoral immune response. *J Exp Med.* 183: 979-89
  117. Stuber F (1996) A genomic polymorphism within the tumor necrosis factor locus influences plasma tumor necrosis factor-alpha concentrations and outcome of patients with severe sepsis. *Crit Care Med* 24: 381-384
  118. Suliburk JW, Helmer KS, Gonzalez EA, Robinson EK, Mercer DW (2005) Ketamine attenuates liver injury attributed to endotoxemia: role of cyclooxygenase-2. *Surgery.* 138: 134-40
  119. Takao Y, Mikawa K, Nishina K, Obara H (2005) Attenuation of acute lung injury with propofol in endotoxemia. *Anesth Analg.* 100: 810-6
  120. Takaono M, Yogosawa T, Okawa-Takatsuji M, Aotsuka S (2002) Effects of intravenous anesthetics on interleukin (IL)-6 and IL-10 production by lipopolysaccharide-stimulated mononuclear cells from healthy volunteers. *Acta Anaesthesiol Scand* 46: 176-179
  121. Taniguchi T, Yamamoto K, Ohmoto N, Ohta K, Kobayashi T (2000) Effects of propofol on hemodynamic and inflammatory responses to endotoxemia in rats. *Crit Care Med.* 28: 1101-6
  122. Teres D, Rapoport J, Lemeshow S, Kim S, Akhras K (2002) Effects of severity of illness on resource use by survivors and nonsurvivors of severe sepsis at intensive care unit admission. *Crit Care Med* 30/11: 2413-2419
  123. Tobias PS, Soldau K, Gegner JA, Mintz D, Ulevitch RJ (1995) Lipopolysaccharide binding protein-mediated complexation of lipopolysaccharide with soluble CD14. *J Biol Chem.* 270: 10482-8
  124. Tominaga T, Fukata J, Naito Y, Usui T, Murakami N, Fukushima M, Nakai Y, Hirai Y, Imura H (1991) Prostaglandin-dependent in vitro stimulation of adrenocortical steroidogenesis by interleukins. *Endocrinology* 128: 526-531
  125. Tønnesen E, Wahlgreen C (1988) Influence of extradural and general anaesthesia on natural killer cell activity and lymphocyte subpopulations in patients undergoing hysterectomy. *Br J Anaesth* 60: 500-507
  126. Trauner M, Fickert P, Stauber RE (1999) Inflammation induced cholestasis. *J Gastroenterol Hepatol* 14: 946-959

127. Ulevitch RJ, Tobias PS (1995) Receptor-dependent mechanisms of cell stimulation by bacterial endotoxin *Annu Rev Immunol.* 13: 437-57
128. Vara E, Aria-Diaz J, Torres-Melero J, Garcia C, Rodriguez JM, Balibrea JL (1994) Effekt of different sepsis-related cytokines on lipid synthesis by isolated hepatocytes. *Hepatology* 20: 924-931
129. Vasile B, Rasulo F, Candiani A, Latronico N (2003) The pathophysiology of propofol infusion syndrome: a simple name for a complex syndrome. *Intensive Care Med.* 29: 1417-25
130. Wagner RL, White PF (1984b) Etomidate inhibits adrenocortical function in surgical patients. *Anesthesiology* 61: 647-651
131. Wagner RL, White PF, Kan PB, Rosenthal MH, Feldman D (1984a) Inhibition of adrenal steroidogenesis by the anesthetic etomidate. *New England J Med* 22: 1415-1421
132. Wake K (1980) Perisinusoidal stellate cells (fat-storing cells, interstitial cells, lipocytes), their related structure in and around the liver sinusoids, and vitamin A-storing cells in extrahepatic organs. *Int Rev Cytol.* 66: 303-53
133. Wake K, Decker K, Kirn A, Knook DL, McCuskey RS, Bouwens L, Wisse E (1989) Cell biology and kinetics of Kupffer cells in the liver. *Int Rev Cytol.* 118: 173-229
134. Walton B (1979) Effects of anaesthesia and surgery on immune status. *Br J Anaesth* 51: 37-43
135. Watt I, Ledingham IMCA (1984) Mortality amongst multiple trauma patients admitted to an intensive therapy unit. *Anaesthesia* 39: 973-981
136. Weigand MA, Schmidt H, Zhao Q, Plaschke K, Bardenheuer HJ (2000) Ketamine modulates the stimulated adhesion molecule expression on human neutrophils in vitro. *Anesth Analg.* 90: 206-12
137. Werdan K, Schuster HP, Müller-Werdan U (2005) Sepsis und MODS. I.2 Abriss der Pathophysiologie als Grundlage der Therapie 23-63. Springer Heidelberg
138. Wichmann MW, Inthorn D, Andress HJ, Schildberg FW (2000) Incidence and mortality of severe sepsis in surgical intensive care patients: The influence of patient gender on disease process and outcome. *Intensive Care Med* 26/2:167-172
139. Wisse E, van't Noordende JM, van der Meulen J, Daems WT (1976) The pit cell: description of a new type of cell occurring in rat liver sinusoids and peripheral blood. *Cell Tissue Res.* 173: 423-35

140. Worek FS, Blumel G, Zeravik J (1988) Comparison of ketamine and Phenobarbital anaesthesia with the conscious state in a porcine model of pseudomonas aeruginosa septicaemia. *Acta Anaesthesiol Scand* 32: 509-515
141. Yang J, Li W, Duan M, Zhou Z, Lin N, Wang Z, Sun J, Xu J (2005) Large dose ketamine inhibits lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats. *Inflamm Res*. 54: 133-7
142. Zahler S, Heindl B, Becker BF (1999) Ketamine does not inhibit inflammatory responses of cultured human endothelial cells but reduces chemotactic activation of neutrophils. *Acta Anaesthesiol Scand*. 43: 1011-6
143. Zahler S, Massoudy P, Hartl H, Hahnel C, Meisner H, Becker BF (1999) Acute cardiac inflammatory responses to postischemic reperfusion during cardiopulmonary bypass. *Cardiovasc Res*. 41: 511-3
144. Zhu X, Zellwger R, Zhu X, Ayala A, Chaudry IH (1995) Cytokine gene expression in splenic macrophages and kupffer cells following haemorrhage. *Cytokine* 7: 8-14
145. Zilberstein G, Levy R, Rachinsky M, Fisher A, Greemberg L, Shapira Y, Appelbaum A, Roytblat L (2002) Ketamine attenuates neutrophil activation after cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg*. 95(3): 531-6
146. Zilberstein G, Levy R, Rachinsky M, Fisher A, Greemberg L, Shapira Y, Appelbaum A, Roytblat L (2002) Ketamine attenuates neutrophil activation after cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg* 95: 531-536

## **Lebenslauf**

**Name** Djahazi  
**Vorname** Farsin  
**Geburtsdatum** 07.02.1976  
**Geburtsort** Saarbrücken

### **Schulische Ausbildung**

1982 – 1986 Grundschule Köllerbach  
1986 – 1995 Realgymnasium Völklingen

Zivildienst

1995 – 1996 Staatliche Schule für Körperbehinderte, Püttlingen

### **Medizinstudium**

WS 96/97 – SS 97 Johannes Gutenberg-Universität Mainz  
WS 97/98 – WS 03/04 Universität des Saarlandes

#### *Prüfungen*

März 1999 Ärztliche Vorprüfung  
März 2000 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
März 2003 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
Mai 2004 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

#### *Praktisches Jahr*

Caritasklinik St. Theresia Saarbrücken

### **Klinische Tätigkeit**

September 2004 bis Mai 2007 Assistenzarzt in der Klinik für Herz-Thorax-Chirurgie der SHG-Kliniken Völklingen

Seit Mai 2007 Assistenzarzt in der Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin der Caritasklinik St. Theresia Saarbrücken



## **Danksagung**

Im Folgenden möchte ich all denjenigen danken, ohne deren Unterstützung und Mithilfe die hier vorgelegte Forschungsarbeit nicht zustande gekommen wäre.

Herrn Prof. Dr. med. R. Larsen danke ich für die Möglichkeit, die Experimente im Forschungslabor der Klinik für Anaesthesiologie und Intensivmedizin der Universitätskliniken des Saarlandes durchführen zu können.

Frau PD Dr. rer. nat. Inge Bauer und Herrn PD Dr. med. Hauke Rensing danke ich für die Bereitstellung des Promotionsthemas und für die Unterstützung bei der Erstellung des Versuchsaufbaus.

Herrn Prof. Dr. med. Michael Bauer, Frau Dr. med. Gudrun Hoff und Frau Beate Wolf danke ich für ihre Beratung und Mithilfe bei der praktischen Durchführung der Versuche.