

Aus der  
Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Thomas Volk

---

**Einfluss unterschiedlicher Narkoseverfahren mit Propofol,  
Desfluran und Sevofluran auf die Synthese der pro- und  
antiinflammatorischen Zytokine TNF -  $\alpha$  und IL - 10 bei  
aortokoronaren Bypassoperationen unter Anwendung der  
extrakorporalen Zirkulation**

---

*Dissertation*  
*zur*  
*Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin*  
der Medizinischen Fakultät  
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2010

Vorgelegt von:  
Tobias Fink  
Geboren am 21.10.1979 in Marbach am Neckar

- 
1. **Tag der Promotion:**
  2. **Dekan:**
  3. **Berichterstatter:**

---

# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	5
<b>1 Zusammenfassung .....</b>	<b>7</b>
1.1 Summary.....	9
<b>2 Einleitung .....</b>	<b>11</b>
2.1 Die Extrakorporale Zirkulation (EKZ) als Einflussfaktor auf das Immunsystem .....	13
2.2 Zytokine .....	14
2.2.1 Tumornekrosefaktor – alpha.....	17
2.2.2 Interleukin – 10.....	17
2.3 Volatile Anästhetika – Pharmakokinetik und Wirkung auf das Immunsystem.....	18
2.4 Propofol – Pharmakokinetik und Wirkung auf das Immunsystem .....	20
2.5 Fragestellung .....	22
<b>3 Material und Methodik .....</b>	<b>23</b>
3.1 Methodik .....	23
3.1.1 Patienten.....	23
3.2 Anästhesie .....	24
3.2.1 Präoperative Phase.....	24
3.2.2 Narkoseeinleitung.....	24
3.2.3 Narkoseaufrechterhaltung .....	25
3.2.4 Narkosebeatmung .....	25
3.2.5 Flüssigkeits- und Elektrolytsubstitution .....	25
3.3 Herzlungenmaschine.....	26
3.3.1 Extrakorporale Zirkulation.....	26
3.3.2 Postoperative Überwachung .....	27
3.4 Untersuchungen zur Zytokinantwort .....	27
3.4.1 Messzeitpunkte .....	28
3.4.2 Probenentnahmen.....	28
3.4.3 Labormaterialien .....	28
3.4.4 Bakterientoxine .....	28
3.4.5 Vollblutansätze.....	28
3.4.6 ELISA-Messung der Zytokinkonzentrationen.....	31
3.5 Statistik .....	32
<b>4 Ergebnisse .....</b>	<b>33</b>
4.1 Demographische und biometrische Daten .....	33
4.2 Untersuchungen zur Zytokinantwort .....	35
4.2.1 Tumornekrosefaktor – alpha.....	36
4.2.2 Interleukin – 10.....	43
<b>5 Diskussion.....</b>	<b>50</b>
5.1 Wertung der Methodik .....	50
5.1.1 Patienten.....	50
5.1.2 Anästhesieverfahren .....	51
5.1.3 Extrakorporale Zirkulation.....	51
5.1.4 Messzeitpunkte .....	52
5.1.5 Messmethodik .....	52
5.2 Diskussion der Ergebnisse .....	54
5.2.1 Spontane Zytokinfreisetzung bei aortokoronarer Bypassoperation .....	57
5.2.2 Zytokinfreisetzung nach ex-vivo Stimulation mit LPS.....	60
<b>6 Schlussfolgerungen.....</b>	<b>66</b>
<b>7 Literaturverzeichnis.....</b>	<b>68</b>
<b>8 Publikationen .....</b>	<b>79</b>

---

8.1	Originalartikel .....	79
8.2	Kongressbeiträge (Poster).....	79
<b>9</b>	<b>Danksagung</b> .....	<b>80</b>

---

## Abkürzungsverzeichnis

ACB	Aortokoronarer Bypass
ACCP	American College of Chest Physicians
ACT	Activated Coagulation Time
BPI	Bactericidal / Permeability Increasing Protein
CABG	Coronary Artery Bypass Graft
CARS	Compensatory anti-inflammatory response syndrome
CD4+	T-Helferzellen
CK	Creatinkinase
CPB	Cardiopulmonary Bypass
EKZ	Extrakorporale Zirkulation
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
HLM	Herzlungenmaschine
KHK	Koronare Herzkrankheit
IL	Interleukin
JAK	Januskinase
LPS	Lipopolysaccharid
MAC	Minimale alveoläre Konzentration
MARS	Mixed antagonistic response syndrome
MODS	Multiple organ dysfunction syndrome
MOV	Multiorganversagen
MW	Mittelwert
NaCl	Natriumchlorid
NK	Natürliche Killerzellen
NFκB	Nuclear factor κB
PBMC	Peripheral blood mononuclear cell
PPS	Post Perfusions Syndrom
RNA	Ribonukleinsäure
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
SCCM	Society of Critical Care Medicine
SD	Standardabweichung
SIRS	Systemic inflammatory response syndrome

---

STAT	Signal transducers and activators of transcription
TCI	Target Controlled Infusion
TIVA	Total intravenöse Anästhesie
TNF – $\alpha$	Tumornekrosefaktor – alpha
ZNS	Zentrales Nervensystem

# 1 Zusammenfassung

## **Einfluss unterschiedlicher Narkoseverfahren mit Propofol, Desfluran und Sevofluran auf die Synthese der pro- und antiinflammatorischen Zytokine TNF - $\alpha$ und IL - 10 bei aortokoronaren Bypassoperationen unter Anwendung der extrakorporalen Zirkulation**

Herzoperationen unter zu Hilfenahme der Herzlungenmaschine sind mit einer vorübergehenden systemischen Entzündungsreaktion assoziiert, die zu einer Produktion von Zytokinen führt. Diese Zytokine gelten mit als wichtiger Prognosefaktor für kardiochirurgische Patienten, auch über den unmittelbaren postoperativen Verlauf hinaus. So ist eine über einen längeren Zeitraum erhöhte Plasmakonzentration von Tumornekrosefaktor – alpha mit einem schlechten Patienten-Outcome nach kardiochirurgischen Eingriffen assoziiert. Dabei ist nicht der Absolutwert des einzelnen Zytokins an sich, sondern viel mehr die Änderung der Konzentrationen über die Zeit, sowie das Verhältnis der Menge der Zytokine zueinander von entscheidender Bedeutung. Das proinflammatorische Zytokin Tumornekrosefaktor – alpha (TNF –  $\alpha$ ) und das antiinflammatorisch wirkende Zytokin Interleukin – 10 (IL – 10) sind wichtige Proteine, die diese Inflammation mitregulieren. Die Produktion dieser Zytokine kann durch die Anwendung verschiedener Narkosemedikamente beeinflusst werden.

In Rahmen der vorliegenden Studie wurde an kardiochirurgischen Patienten, die sich einer aortokoronaren Bypassoperation unter Einsatz der Herzlungenmaschine unterzogen, der Einfluss der volatilen Anästhetika Desfluran und Sevofluran sowie des Hypnotikums Propofol auf die Zytokinproduktion im perioperativen Verlauf bis 24 h nach extrakorporaler Zirkulation analysiert. Im Hinblick auf die „multiple Hit Theorie des Multiorganversagens“ wurde zusätzlich die Stimulierbarkeit peripherer mononukleärer Blutzellen im perioperativen Verlauf untersucht. Eine Reduktion dieser Stimulierbarkeit korreliert, laut vorausgegangenen Studien, mit einem ungünstigen postoperativen Verlauf.

Im Zeitraum von Mai 2005 bis Januar 2007 wurden insgesamt 63 Patienten in die Untersuchung eingeschlossen. Zu definierten Messzeitpunkten unmittelbar präoperativ,

intraoperativ sowie innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Operation wurde den Patienten 10 ml Vollblut pro Messzeitpunkt entnommen. Daraus wurden nach 1-stündiger beziehungsweise 24-stündiger ex-vivo-Kultur im Vollblutansatz die unstimulierten sowie die nach Stimulation mit Lipopolysaccharid erreichten Konzentrationen von TNF –  $\alpha$  und IL – 10 bestimmt. Die Messung der Zytokinkonzentrationen erfolgte mittels enzyme linked immunosorbent assay.

Nur bei wenigen Patienten konnten im unstimulierten Ansatz TNF –  $\alpha$  und IL – 10 Plasmakonzentrationen oberhalb der Detektionsgrenze festgestellt werden. Im Vergleich zur spontanen Zytokinausschüttung ließen sich nach Stimulation mit Lipopolysaccharid signifikant und im Ausmaß exponentiell gesteigerte Zytokinkonzentrationen messen. Nach Ende der extrakorporalen Zirkulation fand sich in allen Untersuchungsgruppen ein signifikanter Abfall der gemessenen Plasmaspiegel von TNF –  $\alpha$  und IL – 10. Im Vergleich zu Desfluran begünstigte eine Narkoseführung mit Propofol oder Sevofluran dabei den anschließenden Wiederanstieg des proinflammatorischen Zytokins TNF –  $\alpha$ , während es unabhängig von den untersuchten Narkoseverfahren zu einem gleichmäßigen Wiederanstieg des antiinflammatorischen Zytokins IL – 10 kam.

Weitere Untersuchungen sind notwendig, um die klinische Relevanz des Zeitverlaufs der verschiedenen Zytokin-Plasmaspiegel und die Bedeutung der längeren Suppression der TNF –  $\alpha$  Synthese nach einer Desfluran basierten Narkose für die längerfristige postoperative Prognose kardiochirurgischer Patienten beurteilen zu können.



## 1.1 Summary

### **Differential effects of Sevoflurane, Desflurane and Propofol on synthesis of the pro- and antiinflammatory cytokines TNF - $\alpha$ and IL - 10 following coronary artery bypass graft using extracorporeal circulation**

Cardiac surgery using cardiopulmonary bypass causes activation of a temporary inflammatory response, followed by synthesis of cytokines, such as the proinflammatory cytokine tumor necrosis factor alpha (TNF -  $\alpha$ ) and the antiinflammatory cytokine interleukin 10 (IL - 10). These cytokines are a relevant prognostic factor in cardiosurgical patients not only directly postoperative. Long-term high levels of TNF -  $\alpha$  correlate with a poor clinical outcome after cardiac surgery. It is not the level of each cytokin itself but more the kinetics and the proportion of serum cytokine levels that play the most important role. The synthesis of these cytokines may be affected by the use of various anesthetics.

We measured influence of the three differential anesthetics desflurane, sevoflurane and propofol on cytokine release during coronary artery bypass graft and during the first 24 postoperative hours. Due to the “multiple hit theory of multi-organ injury” we investigated the stimulated ex-vivo cytokine response of peripheral mononuclear blood cells. A lower ability of peripheral mononuclear blood cells on stimulation is known to correlate with an adverse postoperative outcome.

From May 2005 to January 2007, 63 patients were enrolled into the study. Blood samples were taken at different points of time: preoperative, intraoperative and until 24 hours postoperatively. Levels of unstimulated TNF -  $\alpha$  and IL - 10 were measured after 1 hour and 24 hours using enzyme linked immunosorbant assay. Additionally, levels of TNF -  $\alpha$  and IL - 10 after stimulation with lipopolysaccharide were assayed.

Only a little number of unstimulated patient sera showed detectable concentrations of TNF -  $\alpha$  and IL - 10. Compared with spontaneous cytokine release, stimulation with lipopolysaccharide led to an exponentially increase of TNF -  $\alpha$  and IL - 10 levels. After

extracorporeal circulation TNF –  $\alpha$  and IL – 10 plasma levels decreased significantly in all different anesthesia groups. Anesthesia with propofol or sevoflurane accelerated the reconstitution of TNF –  $\alpha$  synthesis as compared with desflurane. IL – 10 levels increased equal irrespective of the applied anesthesia regimen.

Further investigation will be needed to analyze the relevance of the kinetic of different cytokine plasma levels and the importance of the extended suppression of TNF –  $\alpha$  synthesis after desflurane based anesthesia on clinical outcome of cardiocurgical patients.

## 2 Einleitung

Viele Herzoperationen werden am nicht schlagenden Herzen durchgeführt. Dabei werden Herz und Lunge für die Zeit der Operation aus dem normalen Kreislauf ausgeschaltet. Während dieses kardiopulmonalen Bypasses übernimmt die Herzlungenmaschine die Pumpfunktion des Herzens und die Gasaustauschfunktion der Lunge.

Obwohl in den letzten Jahrzehnten die Mortalitätsrate bei Herzoperationen durch stetige Verbesserung der operativen Technik, des perioperativen Monitorings und der postoperativen Intensivtherapie abgenommen hat (47), stellt die Zuhilfenahme der Herzlungenmaschine, trotz erweiterter technischer Möglichkeiten noch immer einen schwerwiegenden Eingriff in die menschliche Physiologie dar. Konzentrationsänderungen von Entzündungsmediatoren, wie beispielsweise der pro- und antiinflammatorischen Zytokine, lassen sich bei fast allen Patienten feststellen, bei denen das Verfahren der extrakorporalen Zirkulation angewandt wird (3, 20, 33, 45, 106, 107, 114). Das Ausmaß und der zeitliche Verlauf dieser Konzentrationsänderungen ist ein wichtiger Faktor für das Auftreten von postoperativen Komplikationen und mitentscheidend für die längerfristige Prognose dieser Patienten (20, 27, 90, 124).

Diese postoperativen Komplikationen äußern sich durch Funktionsstörungen des Herzens, wie einer Einschränkung der myokardialen Kontraktilität oder Rhythmusstörungen (2, 16, 83), aber auch durch Störungen der Niere, des Gastrointestinaltraktes, der Lunge oder des Gehirns (1, 22, 97, 121). Nach derzeitigem Kenntnisstand scheinen viele dieser Organdysfunktionen auf eine generalisierte und überschießende Aktivierung des Immunsystems zurückzuführen zu sein.

In einer Vielzahl von experimentellen Untersuchungen und klinischen Studien konnte gezeigt werden, dass sich durch die Anwendung von volatilen Anästhetika eine medikamentöse Präkonditionierung induzieren lässt, welche ein Gewebe wie zum Beispiel das Myokard vor einer nachfolgenden Ischämie schützt (5, 23, 28, 30, 48). Eine solche myokardiale Präkonditionierung ist auch für die hier untersuchten volatilen Anästhetika Desfluran und Sevofluran beschrieben (81, 92, 93, 129). Neben den kardioprotektiven Eigenschaften konnte auch eine immunmodulatorische Wirkung von volatilen Anästhetika nach chirurgischen oder experimentellen Stimuli gezeigt werden, wobei die untersuchten Anästhetika vorwiegend

suppressive Effekte auf die Zytokinproduktion aufwiesen (10, 39, 56, 88, 88, 104). Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurde, um die pathophysiologischen Vorgänge besser verstehen und so mögliche therapeutische Konzepte erarbeiten zu können, der Einfluss verschiedener Narkoseverfahren auf die pro- und antiinflammatorische Zytokinantwort während einer aortokoronaren Revaskularisation und im Verlauf bis 24 Stunden danach untersucht.

Nicht nur das chirurgische Trauma, sondern auch mögliche Infektionen im perioperativen Verlauf können eine Immunreaktion des Patienten bewirken und bei ungünstigem Verlauf Organfunktionsstörungen zur Folge haben (40, 75). Um diese als „multiple Hit Theorie des Multiorganversagens“ beschriebenen Vorgänge in Abhängigkeit vom gewählten Narkoseverfahren evaluieren zu können, wurde zusätzlich die Stimulierbarkeit peripherer mononukleärer Blutzellen im perioperativen Verlauf untersucht.

## 2.1 Die Extrakorporale Zirkulation (EKZ) als Einflussfaktor auf das Immunsystem

Der Inflammation nach EKZ liegen ähnliche Pathomechanismen wie der Sepsis zugrunde. Allerdings stellt die EKZ einen Entzündungsreiz dar, auf den der menschliche Organismus entwicklungsgeschichtlich keine spezifische Antwort hervorbringen konnte, und repräsentiert somit ein besonderes klinisch reproduzierbares Modell der systemischen Inflammation.

In Anlehnung an die Richtlinien des „American College of Chest Physicians“ (ACCP) und der „Society of Critical Care Medicine“ (SCCM) ergibt sich die Diagnose der systemischen Entzündungsreaktion oder „systemic inflammatory response syndrome“ (SIRS), wenn mindestens zwei der folgend aufgeführten Kriterien vorliegen.

- 1.) Körpertemperatur  $< 36^{\circ}\text{C}$  oder  $> 38^{\circ}\text{C}$
- 2.) Herzfrequenz  $> 90 / \text{min}$
- 3.) Atemfrequenz  $> 20$  bzw. Hyperventilation  $\text{PaCO}_2 < 32 \text{ mmHg}$
- 4.) Leukozytenzahl  $< 4000 / \mu\text{l}$  oder  $> 12000 / \mu\text{l}$  oder  $> 10 \%$  stabkernige Granulozyten im Differenzialblutbild

Die schwerste Komplikation einer solchen inflammatorischen Reaktion wird nach den Richtlinien der ACCP/SCCM mit Auftreten von Organdysfunktionen beim Akutkranken mit der Notwendigkeit einer (intensiv-) medizinischen Intervention zur Aufrechterhaltung der Homöostase als „multiple organ dysfunction syndrome“ (MODS) definiert.

Einerseits stellt das chirurgische Gewebetrauma an sich einen für das SIRS/MODS begünstigenden Faktor dar (18, 41), andererseits kommen als auslösende Faktoren induzierende Reaktionen in Betracht, die aus dem direkten Kontakt des Blutes und seiner Bestandteile mit großen artifiziellen Oberflächen der Herzlungenmaschine resultieren (66). Das Blut zirkuliert im extrakorporalen System nicht durch endothelialisierte Gefäße, sondern durch Schlauchsysteme und Behältnisse mit unphysiologischen Fremdoberflächen, wie zum Beispiel Silikon, Glas, Kunststoff oder Metall. Der hohe Fluss, die massiven Scherkräfte, hohe Aufprallenergien und begleitende Fremdkörperreaktionen gegen die unphysiologischen Oberflächen haben negative Folgen auf das Blut und seine Bestandteile.

Weiter kommt es durch eine Endotoxineinschwemmung aus dem Gastrointestinaltrakt (64) sowie durch die Ischämie- und Reperfusionseignisse am Herzen selbst (99), zu einem

komplexen Zusammenspiel der humoralen und zellulären Faktoren (21, 65), die das SIRS begünstigen.

In der systemischen Entzündungsreaktion nach extrakorporaler Zirkulation kommt es neben einer vermehrten Synthese verschiedener proinflammatorischer Zytokine zur Aktivierung verschiedenster Mediatorsysteme, wie dem Plasmamediatorsystem, dessen wichtigste Komponenten das Komplement-, das Gerinnungs-, das Fibrinolyse- und das Kallikrein-Kininkaskadensystem sind. Ebenfalls spielen Sauerstoffradikale und Metabolite des Arachidonsäurestoffwechsels, die Zytokine, eine entscheidende Rolle (91, 117). Durch eine Dysbalance pro- und antiinflammatorischer Zytokine, eine erhöhte Permeabilität von Kapillaren sowie der Aktivierung von Granulozyten und Beeinträchtigung der Thrombozyten kann eine zunehmende Organdysfunktion auf lokaler und systemischer Ebene entstehen (11, 15, 45, 68, 122). Weiter kommt es zu einer Abnahme der Proliferation monozytärer und neutrophiler Zellen, die zu einer Hemmung der Synthese antiinflammatorischer Zytokine sowie zur verringerten Ansprechbarkeit von Monozyten auf eine ex-vivo-Stimulation mit bakteriellem Lipopolysaccharid (LPS) führt. Diese Abnahme der Stimulierbarkeit der peripheren mononukleären Zellen (PBMC) korreliert eng mit einem nachteiligen postoperativen Verlauf sowie einem schlechten klinischen Outcome dieser Patienten (50, 132).

## 2.2 Zytokine

Zytokine sind lösliche Peptide und Proteine, die als chemische Mediatoren bereits in kleinsten Konzentrationen (nano- bis picomolar) biologisch wirksam sind. Zusammen mit anderen Signalmolekülen nehmen sie eine wichtige Rolle bei der Regulation zellulärer und humoraler Immunreaktionen ein. Die Freisetzung der Zytokine erfolgt unter anderem durch Monozyten, Makrophagen, Endothel- und Parenchymzellen. Die Regulation der Synthese und Ausschüttung der einzelnen Zytokine erfolgt auf Proteinebene.

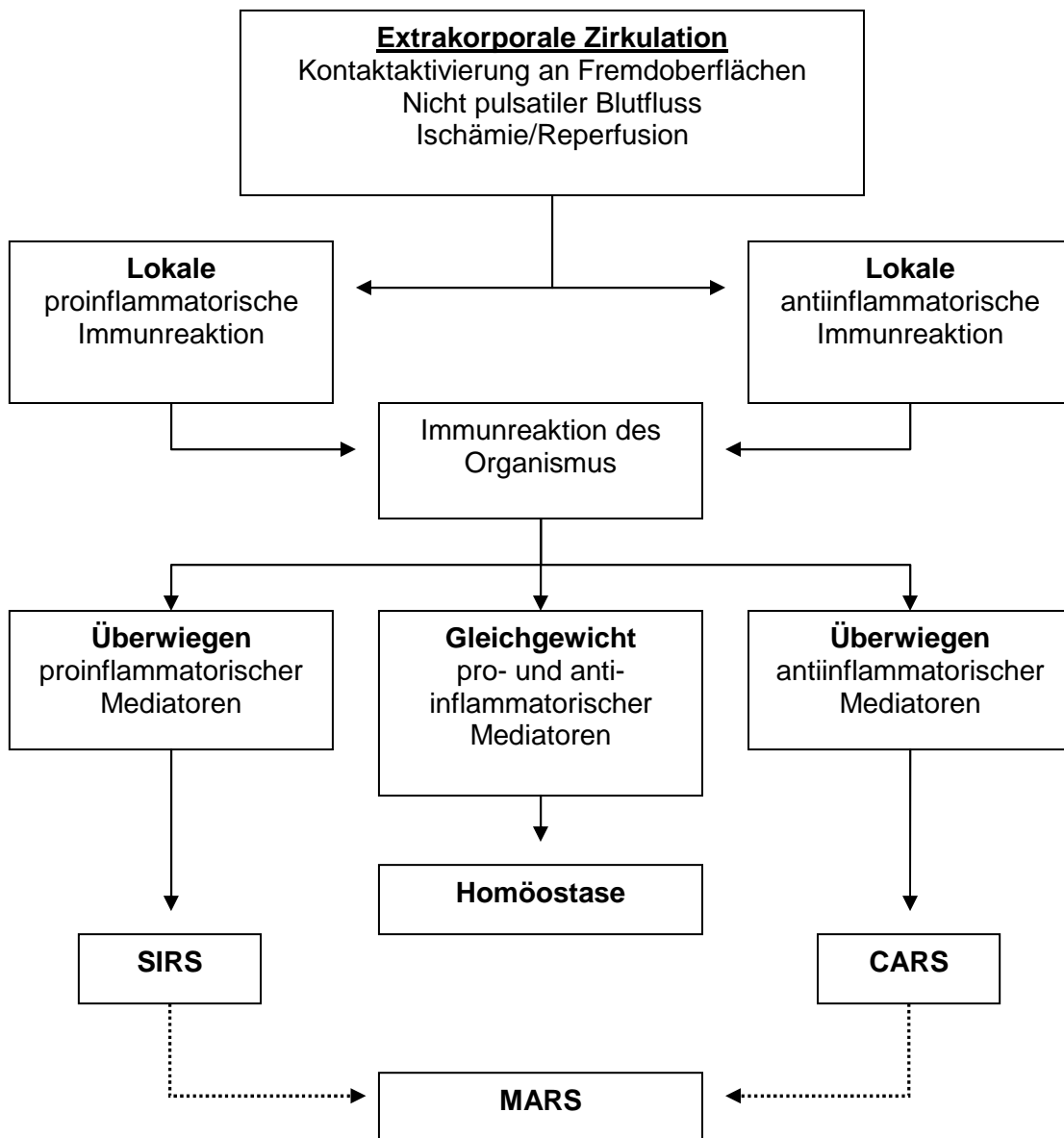
Zytokine können ihre Aktivität autokrin, also sezernierend auf Zellen, oder parakrin auf die Zellen in der Umgebung übertragen, oder können eine hormonähnliche, endokrine Funktion haben. Diese Wirkung wird meist über einen membranständigen spezifischen Zytokinrezeptor vermittelt.

Die Expression der Zytokine gilt als streng reguliert. Dies bedeutet, dass die Synthese als Reaktion auf ein spezifisches Signal induziert wird. Einige dieser Botenstoffe werden jedoch auch konstitutiv produziert und sezerniert. Beeinflussend wirken physiologische Aspekte wie das Lebensalter, eine chirurgische Intervention sowie Infektionen und Neoplasien. Auch der zirkadiane Rhythmus beeinflusst die Bildung von Zytokinen (126).

Die Einteilung der Zytokine erfolgt in proinflammatorische (z. B. TNF –  $\alpha$ ), die eine Entzündungsreaktion in Gang setzen oder diese verstärken, sowie in antiinflammatorische (z. B. IL – 10), welche einer Entzündungsreaktion entgegenwirken.

Obwohl eine exzessive Ausschüttung von proinflammatorischen Zytokinen eine Entzündungsreaktion triggern und damit zu einer postoperativen Organdysfunktion führen kann, ist ihre Freisetzung im Rahmen einer Infektionsabwehr von immenser Wichtigkeit, ebenso wie bei der Wundheilung chirurgischer Patienten. Genauso wichtig ist jedoch eine adäquate Freisetzung von antiinflammatorischen Zytokinen, da ein Gleichgewicht von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen zur Aufrechterhaltung einer normalen Organfunktion notwendig ist. Kommt es im Rahmen einer physiologischen Gegenregulation einer inflammatorischen Noxe zur überschießenden Bildung von antiinflammatorischen Zytokinen, so kann daraus eine relative Immunparalyse mit erhöhter Infektanfälligkeit resultieren. Dieses Krankheitsbild wurde von Bone et al. 1996 als „compensatory anti-inflammatory response syndrome“ (CARS) beschrieben (8) (Abbildung 1, Seite 16).

Ein CARS kann einen Patienten ebenso gefährden wie ein SIRS. In welcher Weise der Organismus auf angreifende Noxen reagiert und ob eine Balance zwischen pro- und antiinflammatorischer Immunantwort erreicht wird, ist für die Heilungschance des Patienten von zentraler Bedeutung.



**Abbildung 1:** Schematische Darstellung der Reaktionsmöglichkeiten des Organismus auf pro- und antiinflammatorische Mediatoren (modifiziert nach Bone 1996). SIRS = systemic inflammatory response syndrome, CARS = compensatory anti-inflammatory response syndrome, MARS = mixed antagonistic response syndrome.



### **2.2.1 Tumornekrosefaktor – alpha**

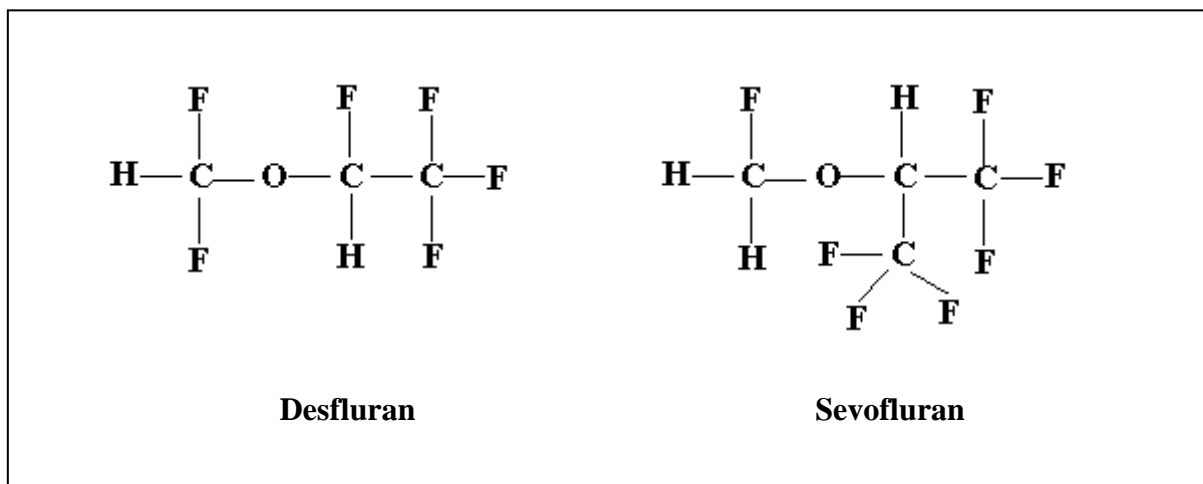
TNF –  $\alpha$  ist ein nicht-glykolisiertes Membranprotein. Es besteht aus 157 Aminosäuren und hat ein Molekulargewicht von 17 kDa. Erst nach Trimerisierung entsteht ein biologisch aktives TNF –  $\alpha$  Molekül, das als einer der wichtigsten Mediatoren der generalisierten Entzündungsreaktion bei Herzoperationen unter Anwendung der EKZ angesehen wird (32). Untermauert wird dies durch die Beobachtung, dass nur bei Patienten, die unter Anwendung der EKZ, nicht aber bei Patienten, die ohne kardiopulmonalen Bypass operiert werden, TNF –  $\alpha$  im Blut nachweisbar ist (14). Die Wirkung von TNF –  $\alpha$  kommt über spezifische Rezeptoren zustande, die auf fast allen Körperzellen exprimiert werden und nach Abspaltung löslicher TNF –  $\alpha$  Rezeptoren (TNFsr-1 und -2) als kompetitive Inhibitoren und damit als antiinflammatorische Mediatoren wirken können. Während eine Vielzahl von Zelltypen nicht in der Lage ist, TNF –  $\alpha$  zu bilden, stellen die ubiquitär vorkommenden Makrophagen den Hauptbildungsort dar. Nach neuem Kenntnisstand ist auch das Myokard in der Lage TNF –  $\alpha$  zu produzieren (82, 115).

### **2.2.2 Interleukin – 10**

IL – 10 ist ein Polypeptid, welches die Synthese proinflammatorischer Zytokine und darüber hinaus verschiedene andere akzessorische Funktionen von Makrophagen hemmt (6, 29). Durch IL – 10 kommt es zur Hemmung der Funktion von Makrophagen, T-Zellen und natürlichen Killerzellen. Die Arbeitsgruppe um Wan konnte zeigen, dass der Nachweis erhöhter IL – 10 Konzentrationen bei Patienten nach Operationen oder Verletzungen eine Immunsuppression zu reflektieren scheint, die zu einer gesteigerten Anfälligkeit gegenüber weiteren infektiösen Noxen führt (115). Bei aortokoronaren Bypassoperationen werden im Koronarsinusblut, im arteriellen und gemischt venösen Blut vergleichbare Konzentrationen von IL – 10 gemessen, während im lebervenösen Blut signifikant höhere Konzentrationen auftreten, so dass weder Herz noch Lunge, sondern die Leber als Hauptbildungsort in Frage kommt (116).

## 2.3 Volatile Anästhetika – Pharmakokinetik und Wirkung auf das Immunsystem

Eine Anästhesie unter Verwendung volatiler Anästhetika zählt zu den häufigsten Formen der Narkose. Ätherderivate wie Sevofluran und Desfluran kommen dabei in Deutschland am häufigsten zur Anwendung. Bei diesen Narkosegasen handelt es sich um Flüssigkeiten, die über spezielle Verdampfersysteme der Atemluft des Patienten zugeführt werden.



**Abbildung 2:** Strukturformel von Desfluran und Sevofluran

Desfluran ist ein Methylethyläther. Bei Sevofluran handelt es sich um einen Methylpropyläther. Die anästhetische Potenz eines volatilen Anästhetikums wird durch die „minimale alveoläre Konzentration“ (MAC) beschrieben. Der MAC-Wert ist definiert als die Konzentration eines volatilen Anästhetikums, die bei 50 % der untersuchten Patienten eine Schmerzreaktion während einer Hautinzision verhindert. Bei einem 40-jährigen Patienten beträgt der MAC-Wert in 100 % Sauerstoff für Desfluran 6 Vol. % und für Sevofluran 1,7 Vol.%.

Die Wirkung eines volatilen Anästhetikums ist von seiner Lipidlöslichkeit, von seiner molekularen Struktur, Größe und der Ladung der Substanz abhängig. Die genauen Wirkmechanismen der volatilen Anästhetika sind noch nicht vollständig bekannt und weiterhin Gegenstand aktueller Forschungen.

Bereits 1899 wurden von Chadbourne et al. erste Beobachtungen gemacht, dass durch die Anwendung von Anästhetika das Immunsystem beeinflusst wird. Inzwischen konnte in einer Vielzahl von Studien die immunmodulatorische Wirkung der Anästhetika gezeigt werden (4, 63, 103). Die Wirkungen von Anästhetika auf das Immunsystem sind vielfältig; es kann sowohl zur indirekten Beeinträchtigung immunkompetenter Zellen als auch zur indirekten Modulation der Immunantwort kommen (103). Bei der Anwendung volatiler Anästhetika beobachtet man eine stärkere Abnahme der Lymphozyten- und Alveolarmakrophagenzahl als bei vergleichbaren Eingriffen unter Regionalanästhesie (70, 96). Weiter ließen sich durch die Anwendung volatiler Anästhetika eine Abnahme der Zytokinproduktion und eine Beeinträchtigung der Funktion immunkompetenter Zellen nachweisen (69). Für die volatilen Anästhetika Sevofluran, Desfluran, Isofluran und Enfluran wurde in der Vergangenheit schon eine supprimierende Wirkung auf die proinflammatorischen Zytokine IL – 1 $\beta$  und TNF –  $\alpha$  im Tiermodell gezeigt (10, 10, 56, 88), jedoch nicht für die antiinflammatorischen Zytokine IL – 10 und IL – 6 (39). Die genauen molekularen Beeinflussungsmechanismen des Immunsystems durch volatile Anästhetika sind letztendlich noch nicht vollständig geklärt.

Bei Patienten mit intaktem Immunsystem haben die immunmodulatorischen Effekte durch die Anwendung von volatilen Anästhetika sicherlich nur untergeordnete Bedeutung. Wie sich jedoch die Immunmodulation durch die volatilen Anästhetika Desfluran und Sevofluran, direkt und im Verlauf bis 24 h nach Anwendung der extrakorporalen Zirkulation darstellt, ist bisher unbekannt und soll anhand der pro- und antiinflammatorischen Zytokine IL – 10 und TNF –  $\alpha$  in dieser Studie untersucht werden.

## 2.4 Propofol – Pharmakokinetik und Wirkung auf das Immunsystem

Bei Propofol handelt es sich um eine Substanz aus der Reihe der Alkylphenole, die zur Hypnoseeinleitung und -aufrechterhaltung intravenös appliziert wird. Sie unterscheidet sich in ihrer chemischen Struktur völlig von den anderen Hypnotika wie den Barbituraten, Benzodiazepinen oder Etomidat. Da Propofol sehr lipophil ist, wird es in einer Emulsion aus Sojaöl, Glycerol und Ei-Lecithin angeboten.

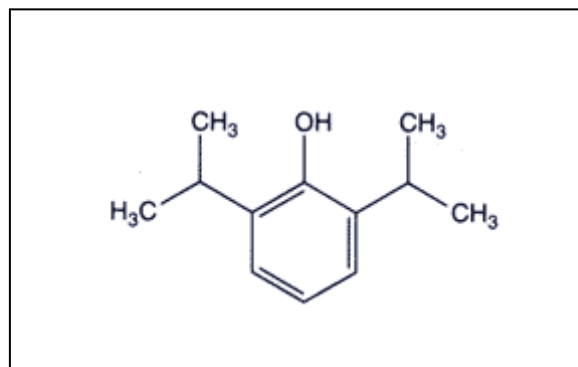


Abbildung 3: Strukturformel von Propofol

Nach Injektion überschreitet Propofol aufgrund seiner hohen Lipophilie schnell die Blut-Hirn-Schranke und reichert sich im ZNS an. Ebenso rasch erfolgt die Rückverteilung aus dem ZNS ins Blut, die Abgabe aus dem peripheren Kompartiment erfolgt dagegen langsam. Aus diesen Eigenschaften resultiert ein schneller Wirkungsbeginn und ein ebenso schneller Wirkungsverlust nach Beendigung der Applikation.

Propofol wird überwiegend hepatisch metabolisiert und die inaktiven Metabolite vorwiegend renal eliminiert (ca. 88 %), nur ca. 0,3 % des injizierten Propofols erscheinen unverändert im Urin und weniger als 2 % im Stuhl.

Die Kenntnisse über die Propofolwirkung auf das Immunsystem sind sehr heterogen und zum Teil widersprüchlich. So konnte in einigen Untersuchungen kein Nachweis einer Modulation des Immunsystems durch Propofol erbracht werden (31, 34), während andere Studien einen nachweisbaren Effekt auf die Körperabwehr, vornehmlich über die Veränderung der pro- und inflammatorischen Zytokinmuster, darstellen konnten (13, 72, 98, 102).

Jedoch fungiert Propofol als Radikalfänger und könnte aufgrund seiner chemischen Struktur membranstabilisierende (kardio-)protektive Eigenschaften haben (60, 100). Die Gabe von Propofol unmittelbar vor dem Lösen der Aortenklemme vermindert die systemische Entzündungsreaktion (100). Möglicherweise kommt es durch die Gabe von Propofol zu einer Störung der ansonsten streng gekoppelten Interaktion von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen und somit zu einem Ungleichgewicht zugunsten der antiinflammatorischen Mediatoren (26). Andererseits wurden immunmodulatorische Effekte im Sinne einer gesteigerten Stimulierbarkeit mononukleärer Zellen im Bezug auf die TNF –  $\alpha$  Freisetzung nach Narkoseführung mit Propofol beschrieben (55, 72), die mit einem positiven Patientenoutcome nach kardiochirurgischen Eingriffen einhergehen könnten (50, 132).

Welche immunmodulatorischen Auswirkung die Narkoseführung mit Propofol auf die pro- und antiinflammatorischen Zytokine IL – 10 und TNF –  $\alpha$  bei aortokoronarer Revaskularisation unter Anwendung der extrakorporalen Zirkulation hat, sollte in dieser Studie untersucht werden.

## 2.5 Fragestellung

Die im Vorfeld dargestellten Literaturbefunde belegen, dass es bei Herzoperationen unter Anwendung der Herzlungenmaschine durch eine Vielzahl von Faktoren zu einer Aktivierung des Immunsystems kommt. Die dabei freigesetzten pro- und antiinflammatorischen Mediatoren haben maßgeblichen Einfluss auf das Auftreten von peri- und postoperativen Komplikationen. So weisen erhöhte Konzentrationen der antiinflammatorischen Zytokine (z.B. IL – 10) auf immunsuppressive Effekte hin, während sich bei Überwiegen der proinflammatorischen Zytokine (z.B. TNF –  $\alpha$ ) eine systemische Entzündungsreaktion entwickeln kann.

In einer Vielzahl von Studien konnte die immunmodulatorische Wirkung unterschiedlicher volatiler Anästhetika gezeigt werden. Vor allem für die Narkosegase Desfluran, Sevofluran und Isofluran wird neben ihrem kardioprotektiven Effekt auch eine Wirkung auf die pro- und antiinflammatorische Zytokinfreisetzung postuliert.

Die komplexe Interferenz verschiedener intravenöser Hypnotika mit dem menschlichen Immunsystem konnte schon früher von unserer und anderen Arbeitgruppen gezeigt werden. So fand sich für das Anästhetikum Propofol ebenfalls eine Beeinflussung der pro- und antiinflammatorische Zytokinantwort.

**Ziel dieser Studie war es, unterschiedliche Narkoseverfahren mit den beiden volatilen Anästhetika Desfluran und Sevofluran sowie dem intravenös verabreichten Hypnotikum Propofol auf ihre Beeinflussung der unstimulierten und durch LPS stimulierten, pro- und antiinflammatorischen Zytokine TNF –  $\alpha$  und IL – 10 bei aortokoronaren Bypassoperationen unter Anwendung der Herzlungenmaschine in einem Zeitraum von 20 min nach extrakorporalen Zirkulation bis 24 h postoperativ zu untersuchen.**

**Dabei sollte insbesondere der Frage nachgegangen werden, ob sich eine total intravenöse Narkose von einer balancierten Narkose hinsichtlich der Zytokinausschüttung im perioperativen Verlauf bis 24 h nach aortokornerer Bypassoperation unterscheidet.**

## 3 Material und Methodik

### 3.1 Methodik

Die im Folgenden dargestellten Untersuchungen wurden im Rahmen einer prospektiven randomisierten monozentrischen Kohortenstudie am Universitätsklinikum des Saarlandes in Homburg durchgeführt. Ziel der Studie war es, systematisch den Einfluss einer Narkoseführung mit den volatilen Anästhetika Desfluran und Sevofluran und dem i.v. Hypnotikum Propofol auf die perioperative Immunreaktion bei aortokoronaren Bypassoperationen unter Einsatz einer extrakorporalen Zirkulation zu untersuchen.

#### 3.1.1 Patienten

Nach Prüfung und Billigung des Studienprotokolls durch die Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes wurden im Zeitraum zwischen Mai 2005 und Januar 2007 63 Patienten, die sich einer elektiven aortokoronaren Bypassoperation unter Einsatz einer extrakorporalen Zirkulation an der Klinik für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie des Universitätsklinikums des Saarlandes unterziehen mussten, in die Untersuchung eingeschlossen. Das Alter der Patienten lag zwischen 45 und 75 Jahren.

Im präoperativen anästhesiologischen Aufklärungsgespräch wurde nach ausführlicher Information über das geplante Vorgehen das mündliche und schriftliche Einverständnis der Patienten eingeholt. Die teilnehmenden Patienten wurden dafür gemäß einem zuvor per Computer erstellten Randomisierungsplan einer von drei Gruppen zugeteilt. Die Gruppen unterschieden sich nur im Bezug auf die Narkoseaufrechterhaltung mit Sevofluran, Desfluran oder Propofol.

Als Ausschlusskriterien galten:

- Fehlende Geschäftsfähigkeit
- Fehlende Einverständniserklärung des Patienten
- Teilnahme an einer anderen Studie
- Kardiovaskuläres Insultereignis innerhalb der letzten drei Monate
- Angiographische Ejektionsfraktion < 40%
- Notfalleingriff

- Erkrankungen mit Beeinträchtigung des Immunsystems
- Kortikosteroid Dauertherapie
- Unverträglichkeit eines der in der Untersuchung verwendeten Medikamente

Alle Patienten standen unter einer Dauermedikation mit beta-Rezeptor-Antagonisten, Nitraten oder Calciumantagonisten sowie einer thrombozytenaggregationshemmenden Therapie. Diese, wie auch eventuelle weitere Medikamente, wurden unabhängig von der Studie weiter verabreicht.

## **3.2 Anästhesie**

### **3.2.1 Präoperative Phase**

Alle Patienten wurden am Vorabend der Operation mit 5 mg Nitrazepam (Mogadan®, Hoffmann-La Roche AG; Grenzach-Wyhlen) und 60 – 90 Minuten vor Beginn der Narkoseeinleitung mit 1 mg Flunitrazepam (Rohypnol®, Hoffman-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen) oral prämediziert. Ferner erhielten alle Patienten am Operationstag ihre vorbestehende Dauermedikation. Die unmittelbar präoperative Vorbereitung sowie die notwendigen invasiven Überwachungsverfahren folgten den üblichen Standards bei ACB-Operationen. Alle Patienten erhielten vor Narkoseeinleitung einen periphervenösen sowie radialarteriellen Zugang.

### **3.2.2 Narkoseeinleitung**

Bei allen Patienten wurde unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit zur Einleitung der Allgemeinanästhesie Etomidat (Etomidat-®Lipuro, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) 0,2 – 0,3 mg/kg, Sufentanil (Sufentanil DeltaSelect, DeltaSelectGmbH, Dreieich) 0,1 – 0,2 µg/kg, sowie Rocuroniumbromid (Esmeron®, Organon GmbH, Oberschleißheim) 1 mg/kg verwendet.

Nach Einleitung der Vollnarkose wurden zusätzlich ein zentralvenöser Katheter, ein transurethraler Blasenkatheter, eine Magensonde und eine rektale Temperaturmesssonde gelegt.



### 3.2.3 Narkoseaufrechterhaltung

Die drei Patientengruppen unterschieden sich im Bezug auf die Narkoseaufrechterhaltung. Sufentanil (Sufentanil DeltaSelect, DeltaSelectGmbH, Dreieich) wurde während der gesamten Narkose in der Dosierung von 1 µg/kg/h in allen drei Gruppen verwendet. Dem Randomisierungsplan entsprechend erhielten 17 Patienten zur Narkoseaufrechterhaltung Sevofluran (Sevofluran Baxter, Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim), 19 Patienten Desfluran (Suprane®, Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim). Bei 19 Patienten wurde die Narkose mittels Propofol (Propofol®Lipuro, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) aufrechterhalten. Während der EKZ wurde in allen Gruppen Propofol per Dauerinfusion (Injectomat C-PS, Fresenius AG, Bad Homburg) gegeben. Die Dosierung des Hypnotikums und eventuelle Nachinjektionen des Muskelrelaxans erfolgten nach klinischer Notwendigkeit durch den zuständigen Anästhesisten.

### 3.2.4 Narkosebeatmung

Die Patienten wurden nach Durchführung der endotrachealen Intubation mit Ausnahme der Dauer der extrakorporalen Zirkulation kontrolliert beatmet (Primus®, Dräger AG, Lübeck), wobei Normoventilation (PaCO<sub>2</sub> 37-43 mm Hg) angestrebt wurde.

### 3.2.5 Flüssigkeits- und Elektrolytsubstitution

Im Rahmen der Narkoseeinleitung wurde den Patienten durchschnittlich 1000 ml einer isotonen Vollelektrolytlösung (Sterofundin®, B. Braun AG Melsungen, Melsungen) infundiert. Zusätzlich wurden 1,5 g Cefuroxim (Zinacef®, Hoechst Pharma, Frankfurt/Main) intravenös verabreicht. Die weitere Infusionstherapie bis zum Beginn sowie ab der Entwöhnung von der extrakorporalen Zirkulation war nicht standardisiert. Nach Beendigung der EKZ erfolgte die Volumentherapie basierend auf den Füllungsdrücken des linken Vorhofes, die über einen vom Herzchirurgen unter direkter Sicht eingelegten linksatrialen Katheter kontinuierlich gemonitort wurden. Hierzu wurden Vollelektrolyt- (Sterofundin®, B. Braun AG Melsungen, Melsungen) oder Gelatinelösungen (Gelafundin® 4%, Braun Melsungen AG, Melsungen) verwendet. Das aus dem Operationsgebiet und nach Ende der extrakorporalen Zirkulation aus der Herzlungenmaschine abgesaugte Blut wurde maschinell aufbereitet (Cell Saver® 5, Haemonetics, München) und das dadurch wieder gewonnene autologe Erythrozytenkonzentrat bis zum Operationsende retransfundierte.

### 3.3 Herzlungenmaschine

Das Füllvolumen der Herzlungenmaschine bestand aus 1500 ml Ringer-Laktat-Lösung (Ringer Lactat DAB 7 Braun®, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) und 500 ml Gelatinelösung (Gelafundin® 4%, B. Braun Melsungen AG, Melsungen).

#### 3.3.1 Extrakorporale Zirkulation

Nach Eröffnung des Perikards erhielten alle Patienten zur vollständigen Aufhebung der Blutgerinnung vor Kanülierung der Aorta eine Bolus von 500 IE/kg Heparin (Heparin Natrium Braun®, Braun Melsungen AG, Melsungen) über den zentralen Venenkatheter. Die Überwachung der Heparinwirkung erfolgte durch wiederholte Bestimmung der Activated Coagulation Time (ACT) (Hemochron® Incorporation, Edison, NY, USA) im Vollblut der Patienten. Als unterer Grenzwert für eine ausreichende Heparinisierung wurde ein ACT-Wert von 400 s angesehen. Bei Bedarf wurden weitere Bolusinjektionen von 5000-10000 IE Heparin vorgenommen. Für die extrakorporale Zirkulation wurden eine Rollerpumpe (Stöcker Instrumente GmbH, München) und ein Membranoxygenator (Medtronic Maxima®, Medtronic Düsseldorf) verwendet. Um Blutkoagel und Gewebspartikel abzufangen, war im arteriellen und venösen Schenkel der Herzlungenmaschine jeweils ein Filter mit einer Porengröße von 40µm integriert. Das Schlauchsystem (Jostra, Hirrlingen) der Herzlungenmaschine war unbeschichtet. Die Einleitung des arterialisierten Blutes erfolgte über die Aorta ascendens, die venöse Drainage über eine über das rechte Herzohr eingeführte Zweistufenkanüle.

Die extrakorporale Zirkulation wurde mit nicht pulsatilem Blutfluss und einem Strom-Zeit-Volumen von 2,4 l/min/m<sup>2</sup> Körperoberfläche betrieben. Als Perfusionsdruck wurde ein arterieller Mitteldruck zwischen 50 und 90 mmHg angestrebt. Dieser wurde gegebenenfalls durch Zufuhr vasokonstriktorisch oder vasodilatatorisch wirksamer Medikamente auf diesen Bereich eingestellt. Ein während der Bypassphase auftretender Volumenmangel konnte durch zusätzliches Nachfüllen von Gelatine-Lösung in die Herzlungenmaschine ausgeglichen werden. Als unterer Grenzwert der Hämodilution wurde während der Dauer des kardiopulmonalen Bypass ein Hämatokritwert von 20% angesehen, bei dessen Unterschreiten die Transfusion von Erythrozytenkonzentraten erfolgte. Nach Ende der extrakorporalen Zirkulation wurde zur Wiederherstellung der Blutgerinnung, in Anhängigkeit von der zuvor applizierten Heparinmenge, Protamin (Protamin Roche®, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen), verdünnt in 100ml isotoner Kochsalzlösung infundiert. Ein ACT-Wert

nach Protamingabe im Bereich des Ausgangswertes vor Heparin- $\pm$  20% wurde als ausreichend für die wiederhergestellte Blutgerinnung angesehen. Zur Optimierung der Füllungsdrücke und Unterstützung der Myokardkontraktilität erhielten die Patienten im Bedarfsfall während und nach der Entwöhnung von der extrakorporalen Zirkulation Dobutamin- und/oder Noradrenalin-Infusionen bzw. Nitroglycerin-Infusionen.

Zur Senkung des Sauerstoffverbrauchs während der Dauer der extrakorporalen Zirkulation wurde die aortokoronare Revaskularisation in mäßiger Hypothermie des Patienten durchgeführt, wobei die Kühlung intern über einen im Oxygenator der Herzlungenmaschine integrierten Wärmeaustauscher (Medtronic, Düsseldorf) erfolgte. Zur weiteren Myokardprotektion wurde unmittelbar nach Aortenabklemmung und bei entlastetem linkem Herzen antegrad gekühlte kardioplegische Lösung (St. Thomas Lösung) in die Aortenwurzel infundiert. Die dazu verwendete Kanüle diente dann im weiteren Verlauf der Operation auch als Aortic-Root-Vent zur Drainage des linken Ventrikels.

### **3.3.2 Postoperative Überwachung**

Nach Ende der Operation wurden alle Patienten zur weiteren Überwachung auf die kardiochirurgische Intensivstation verlegt. Die dortige Therapie erfolgte auf Grundlage klinischer beziehungsweise laborchemischer Gesichtspunkte nach den üblichen Behandlungsstandards durch die Kollegen der Herz-Thoraxchirurgie.

## **3.4 Untersuchungen zur Zytokinantwort**

Ziel der Untersuchung war es, die spontane und die durch Endotoxin stimulierte Freisetzung der pro- beziehungsweise antiinflammatorischen Zytokine TNF –  $\alpha$  und IL – 10 in Abhängigkeit von der gewählten Methode der Narkoseaufrechterhaltung im Zeitverlauf einer aortokoronaren Revaskularisation unter Anwendung der EKZ zu quantifizieren und untereinander zu vergleichen.

Zu vier verschiedenen Messzeitpunkten wurde nach einer 24-stündigen ex-vivo Kultur im Vollblutansatz die unstimulierte und die nach LPS-Stimulation erreichte Plasmakonzentration von TNF –  $\alpha$  und IL – 10 analysiert.

### 3.4.1 Messzeitpunkte

Zu vier definierten Zeitpunkten wurden jeweils 10 ml Vollblut aus dem peripherarteriellen Zugang entnommen.

- Messzeitpunkt 1 (T1): nach Narkoseeinleitung, vor Operationsbeginn
- Messzeitpunkt 2 (T2): 20 min nach Beendigung der EKZ
- Messzeitpunkt 3 (T3): 6 Stunden postoperativ
- Messzeitpunkt 4 (T4): 24 Stunden postoperativ

### 3.4.2 Probenentnahmen

Die Entnahme der Blutproben erfolgte zu den oben genannten Zeitpunkten in Blutentnahmeröhrchen der Firma Sarstedt (Lithium-Heparin Sarstedt Monovette®, Firma Sarstedt, Nümbrecht). Jeweils unmittelbar nach der Entnahme der Blutproben folgte die Weiterverarbeitung in Anlehnung an das 1991 von Wilson und Mitarbeitern beschriebene Vollblutprotokoll (123) mit Modifikationen wie beschrieben in Kleinschmidt et al. (68). Abbildung 4 auf Seite 30 gibt eine schematische Übersicht über den Untersuchungsablauf.

### 3.4.3 Labormaterialien

Das bakterielle Endotoxin sowie die in den Versuchen verwendeten Chemikalien wurden, wenn nicht anders erwähnt, von Sigma Aldrich Chemie (Taufkirchen) bezogen und waren von der höchsten erhältlichen Reinheit (molecular grade).

### 3.4.4 Bakterientoxine

Zur Stimulation der Zytokinantwort wurde ein Lipopolysaccharid aus *Escherichia coli* O111:B4 verwendet. In Voruntersuchungen war gezeigt worden, dass 1 µg/ml LPS zu einer maximalen Zytokinstimulation führt (87).

### 3.4.5 Vollblutansätze

Die entnommenen Blutproben wurden im Verhältnis 1:5 mit Roswell-Park-Memorial-Institute (RPMI) 1640-Zellkulturmedium (PAA Laboratories GmbH, Pasching, Österreich) verdünnt. Anschließend wurden sie in sterile, pyrogenfreie Zellkulturplatten (Cellstar®, Greiner Bio-One International AG, Kremsmünster, Österreich) aliquotiert (2,5 ml pro Well). Aus zwei

parallelen Versuchsansätzen erfolgte nach 24-stündiger Kultur die Bestimmung der spontanen sowie der LPS-stimulierten Zytokinfreisetzung.

Die nichtstimulierten Aliquoten wurden bei 37°C in einer Atmosphäre mit 5% CO<sub>2</sub> und 95% Luftfeuchtigkeit inkubiert. Um einen Ausgangswert zu gewinnen, wurde nach einstündiger Inkubation das Plasma aus einem der Wells entnommen, die übrigen verblieben für weitere 23 Stunden im Inkubator. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde das überstehende Plasma abpipettiert und bis zur Messung der Zytokinkonzentration mittels Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) bei -70° C tiefgefroren.

Zur Bestimmung des Effekts der Endotoxinstimulation wurden die Aliquoten nach einstündiger Inkubation unter den oben beschriebenen Bedingungen mit 1 µg/ml LPS (*Escherichia coli* O111:B4) versetzt.

Nach Inkubation für weitere 23 Stunden wurde ebenfalls das überstehende Plasma abpipettiert und bis zur Durchführung der ELISA bei -70°C aufbewahrt.

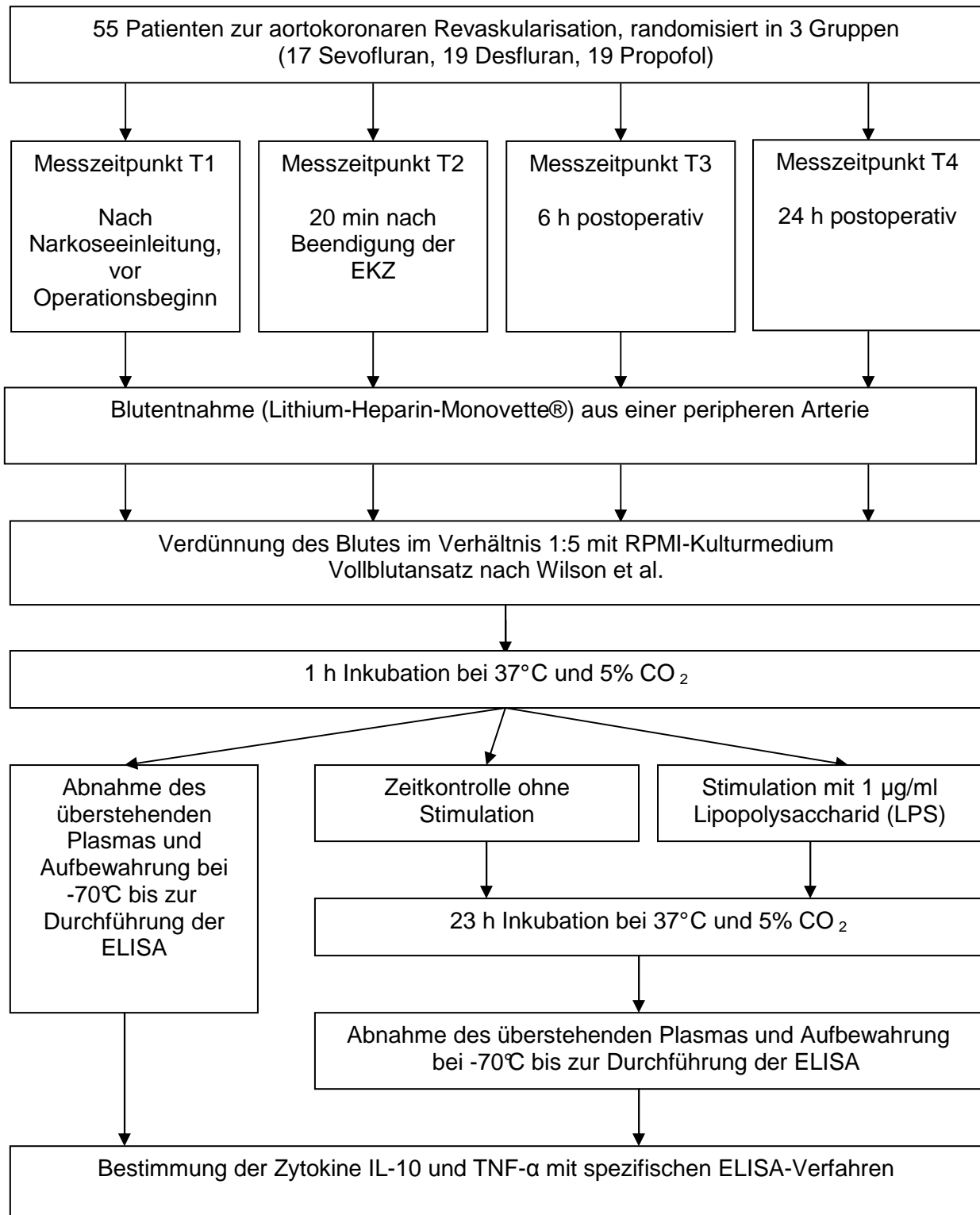
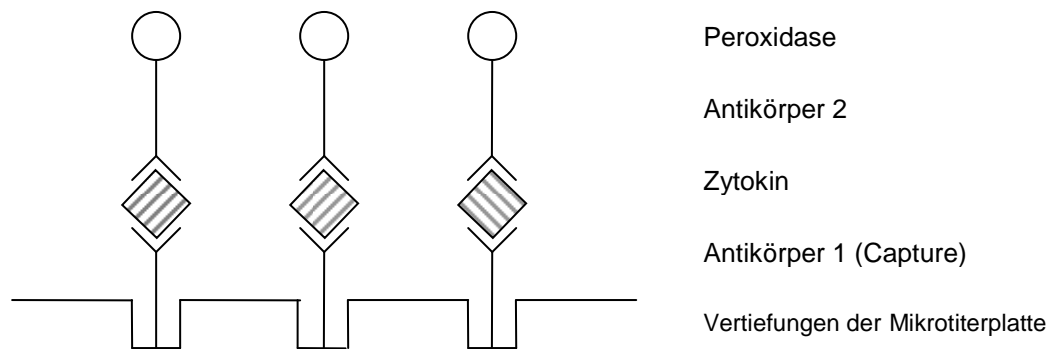


Abbildung 4: Schematische Darstellung des Versuchsablaufs

### 3.4.6 ELISA-Messung der Zytokinkonzentrationen

Alle Zytokinbestimmungen erfolgten innerhalb von maximal 6 Monaten nach der Probenentnahme. Die Bestimmung der Zytokine TNF –  $\alpha$  und IL – 10 erfolgte mit spezifischen kommerziell erhältlichen ELISA-Kits der Firma BD Biosciences, San Diego, USA gemäß der vom Hersteller angegebenen Analysetechnik. Die Untersuchung basiert auf dem so genannten Sandwich-Prinzip, bei dem das zu bestimmende Antigen zwischen zwei Antikörpern eingebettet wird (Abbildung 5).



**Abbildung 5:** Schematische Darstellung des Sandwich-Prinzips

Am Boden einer Mikrotiterplatte wird ein gegen das zu bestimmende Antigen gerichteter monoklonaler Capture Antikörper aufgebracht. Die zu analysierenden Plasmaproben werden hinzupipettiert, woraufhin der spezifische Capture-Antikörper eine Verbindung mit dem Epitop des zu bestimmenden Zytokins eingeht. Ungebundene Proteine werden durch einen Waschvorgang entfernt. Ein zweiter, enzymgekoppelter Peroxidase Antikörper wird aufgetragen und bindet an ein weiteres Epitop des gesuchten Zytokins. Nicht gebundener Antikörper wird durch einen Waschvorgang nach Ablauf einer spezifischen Inkubationszeit entfernt. Durch Zusatz einer peroxidaseabhängigen Substratlösung kommt es zu einer Farbreaktion, die proportional zur Menge des gebundenen Zytokin ist. Nach Verstreichen einer temperaturabhängigen Inkubationszeit von ca. 15 bis 30 min unter Ausschluss des Tageslichtes, wird die Farbreaktion durch das Hinzufügen von 1 molarer Schwefelsäure gestoppt. Der Farbumschlag wird in einem ELISA-Reader (ELx800™ Absorbance Microplate Reader, BioTEK® Instruments GmbH Bad Friedrichshall) photometrisch gemessen und unter Verwendung entsprechender Software (BioTEK Gen5™) ausgewertet. Zur Ermittlung der Standardkurve dient eine in die ersten beiden Reihen der Mikrotiterplatte aufbrachte Verdünnungsreihe von rekombinantem TNF –  $\alpha$  und IL – 10.

Nach Stimulation mit LPS steigt die Menge an Zytokin in großem Maße an. Um im linearen Bereich der Standardkurve der Assays zu bleiben, wurden die LPS stimulierten Proben zur Bestimmung von TNF –  $\alpha$  vor der Messung 1:10 mit Waschpuffer verdünnt. Der Verdünnungsfaktor wurde anschließend bei der Berechnung der Zytokinkonzentration berücksichtigt. Die Proben zur Bestimmung von IL – 10 sowie die nichtstimulierten Proben blieben unverdünnt. Nach Herstellerangaben lag die minimale messbare Konzentration bei 2 pg/ml für TNF –  $\alpha$  und bei 5 pg/ml für IL – 10.

### 3.5 Statistik

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Institut für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Medizinische Informatik der Universität des Saarlandes und dem Statistikprogramm SigmaStat® 3.1. (Jandel Scientific, San Raphael, USA).

Nach Prüfung auf Normalverteilung, durch den Kolmogorow-Smirnow-Test, wurden die unterschiedlichen Zytokinexpressionen zwischen den verschiedenen Narkoseverfahren, mit One Way Analysis of Variance miteinander verglichen. Waren die Kriterien zur Durchführung parametrischer Testverfahren nicht erfüllt, wurde der Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks durchgeführt. Der zeitliche Verlauf der Zytokinfreisetzung innerhalb einer Narkosegruppe erfolgte mittels One Way Repeated Measure Analysis of Variance on Ranks. Waren die Kriterien zur Durchführung parametrischer Testverfahren nicht erfüllt, wurde die Friedman Repeated Measure Analysis of Variance on Ranks durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde auf  $p < 0,05$  festgelegt. Sofern nicht anders angegeben, wurden die Daten als arithmetische Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung (MW  $\pm$  SD) dargestellt. Die graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgte mittels eines Graphikprogramms (SigmaPlot® 9.0, Jandel Scientific, San Raphael, USA).



## 4 Ergebnisse

Im Folgenden werden die Ergebnisse der unstimulierten Freisetzung von TNF –  $\alpha$  und IL – 10 nach 1 Stunde und nach 24 Stunden Inkubationszeit sowie der durch LPS stimulierten Freisetzung von TNF –  $\alpha$  und IL – 10 nach 24 Stunden Inkubation im perioperativen Verlauf einer aortokoronaren Revaskularisation dargestellt.

### 4.1 Demographische und biometrische Daten

Die in die Untersuchung einbezogenen Personen repräsentieren ein typisches Kollektiv von Patienten zur aortokoronaren Revaskularisation mit den entsprechenden erkrankungsspezifischen Risikofaktoren, jedoch ohne spezielle Begleiterkrankungen.

In die Untersuchung wurden insgesamt 63 Patienten eingeschlossen, davon 20 in die Sevoflurangruppe, 21 in die Desflurangruppe und 21 in die Propofolgruppe. 8 Studienpatienten wurden aufgrund der inkomplett erhobenen Daten von der statistischen Auswertung ausgeschlossen. Daher erfolgte die statistische Auswertung an einem Kollektiv von insgesamt 55 Probanden, 19 in der Propofolgruppe, 19 in der Desflurangruppe und 17 in der Sevoflurangruppe (Diagramm 1, Seite 34).

Die demographischen, biometrischen und operationsbezogenen Daten sind in Tabelle 1 (Seite 34) dargestellt.

In den 3 Untersuchungsgruppen fanden sich keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich Alter, Körpergewicht und Körpergröße. Auch die Geschlechterverteilung war in allen 3 Untersuchungsgruppen vergleichbar, wobei jeweils signifikant mehr Männer als Frauen eingeschlossen waren ( $p < 0,05$ ). Die präoperativ bestimmten Ejektionsfraktionen waren in den 3 Untersuchungsgruppen nicht signifikant verschieden. Die operationsbezogenen Daten, wie Aortenklammzeit, EKZ-Dauer und Operationsdauer, zeigten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede.

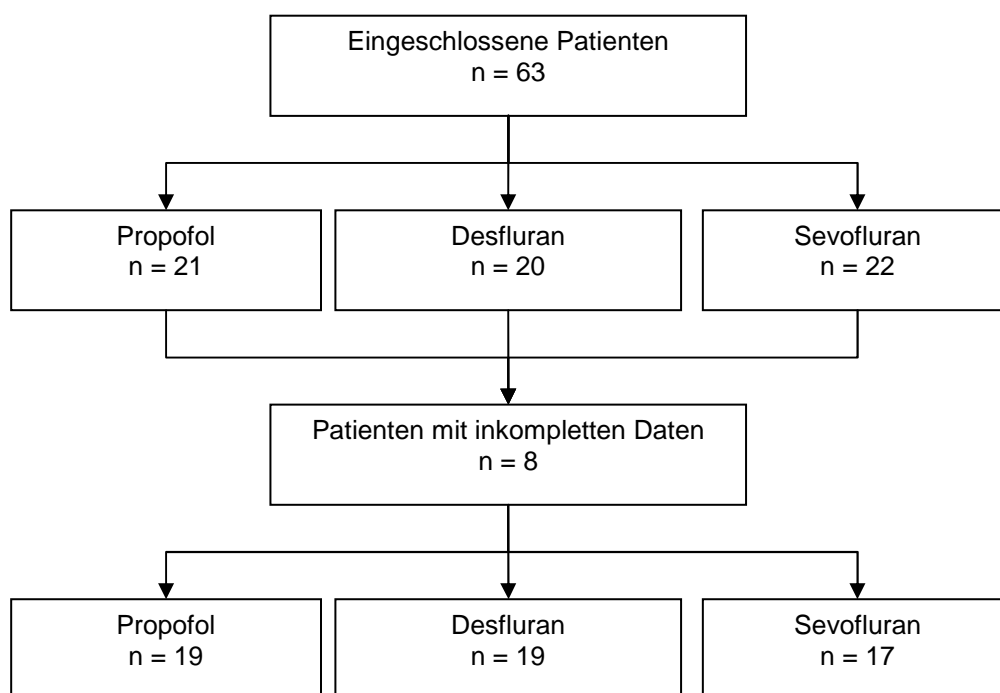


Diagramm 1: Flussdiagramm zur Aufgliederung der eingeschlossenen Patienten

	Gesamt	Propofol	Desfluran	Sevofluran
<b>Anzahl [n]</b>	55	19	19	17
<b>Geschlecht [m/w]</b>	45/10	15/4 *	16/3 *	14/3 *
<b>Alter [Jahre]</b>	62,5 ± 1,2	64,2 ± 2,3	61,5 ± 1,9	60,3 ± 1,9
<b>Körpergröße [cm]</b>	172 ± 1	172 ± 2	172 ± 2	173 ± 2
<b>Körpergewicht [kg]</b>	84,9 ± 1,7	85,8 ± 2,9	83,3 ± 3,0	84,9 ± 3,5
<b>Ejektionsfraktion [%]</b>	66,4 ± 1,7	66,1 ± 2,5	65,9 ± 2,8	65,1 ± 4,0
<b>EKZ-Dauer [min]</b>	75,4 ± 2,7	75,0 ± 3,70	75,2 ± 5,0	75,9 ± 5,4
<b>Aortenklemmzeit [min]</b>	50,2 ± 1,9	47,84 ± 2,5	51,0 ± 3,3	52,0 ± 4,3
<b>Operationsdauer [min]</b>	195,6 ± 4,7	185,7 ± 8,5	205,8 ± 6,7	195,1 ± 9,0

Tabelle 1: Demographische, biometrische und operationsbezogene Daten. Angaben als MW ± SD.

\* p&lt;0,05 Männer vs. Frauen

## 4.2 Untersuchungen zur Zytokinantwort

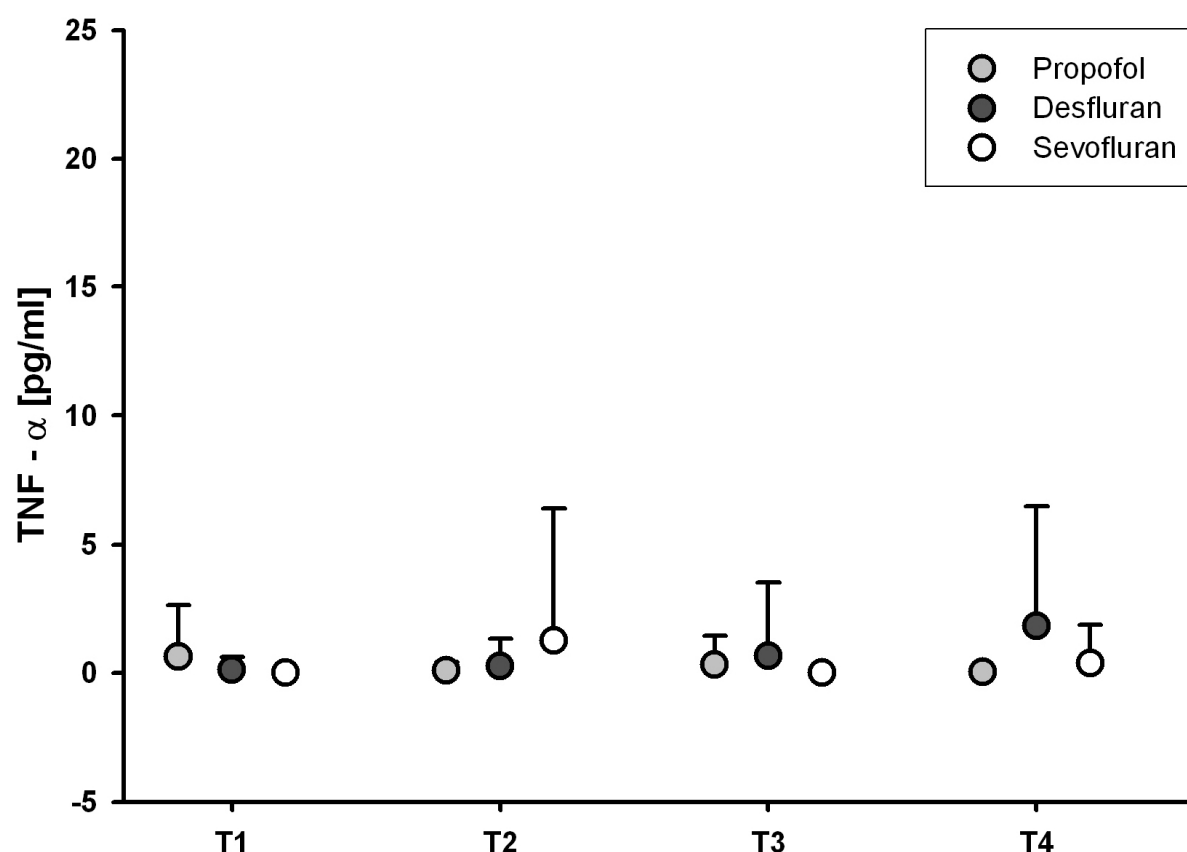
Nachfolgend werden die durch ELISA-Messungen ermittelten TNF –  $\alpha$  und IL – 10 Konzentrationen an den unterschiedlichen Messzeitpunkten ohne und mit LPS-Stimulation dargestellt.

Die graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgt bei den 1 und 24 Stunden Werten mittels Scatter Plot, bei den mit LPS stimulierten Ergebnissen mittels Box-Plot. Auf der Ordinate erfolgt die Darstellung der gemessenen Konzentrationen in pg/ml, auf der Abszisse werden die Messzeitpunkte T1 – T4 abgebildet. Zur besseren Veranschaulichung erfolgt die Darstellung farbcodiert: Die Propofolgruppe wird hellgrau, die Desflurangruppe in dunkelgrau und die Sevoflurangruppe weiß bzw. weiß/schraffiert dargestellt.

## 4.2.1 Tumornekrosefaktor – alpha

### 4.2.1.1 Unstimulierte TNF – $\alpha$ Konzentration nach 1 h Inkubation des Vollblutansatzes

Die folgende Abbildung zeigt den spontanen Verlauf des proinflammatorischen Zytokins TNF –  $\alpha$ , nach einstündiger Inkubation des Vollblutansatzes.



**Abbildung 6: spontane TNF –  $\alpha$  Konzentration [pg/ml] nach 1 h Inkubation. Darstellung als MW + SD. T1: nach Narkoseeinleitung, T2: 20 min nach EKZ, T3: 6h postoperativ, T4: 24h postoperativ**

In den unstimulierten Proben konnten nach einstündiger Inkubation nur bei weniger als vier Patienten pro Gruppe und Blutentnahmezeitpunkt messbare Konzentrationen von TNF –  $\alpha$  über der Detektionsgrenze des ELISA's gefunden werden. Es zeigten sich teilweise große intra- und interindividuelle Unterschiede in den gemessenen Zytokinkonzentrationen.

Bei Analyse des zeitlichen Verlaufs der einzelnen Messzeitpunkte T1 bis T4 fanden sich keine signifikanten Änderungen der Zytokinkonzentrationen (Tabelle 2, Seite 37). Auch zwischen den drei gewählten Narkoseverfahren mit Propofol, Desfluran und Sevofluran fanden sich an keinem der vier Messzeitpunktezeitpunkte signifikante Unterschiede (Tabelle 3, Seite 37).

Narkoseverfahren	Messzeitpunkt	n	TNF – $\alpha$ [pg/ml]	Signifikanz
Propofolgruppe	T1	3	3,644 $\pm$ 2,746	ns
	T2	2	0,0870 $\pm$ 0,077	
	T3	2	0,303 $\pm$ 0,259	
	T4	2	0,0135 $\pm$ 0,010	
Desflurangruppe	T1	1	0,114 $\pm$ 0,114	ns
	T2	1	0,243 $\pm$ 0,243	
	T3	1	0,649 $\pm$ 0,649	
	T4	3	0,961 $\pm$ 0,736	
Sevoflurangruppe	T1	0	0,000 $\pm$ 0,000	ns
	T2	1	1,248 $\pm$ 1,248	
	T3	0	0,000 $\pm$ 0,000	
	T4	1	0,359 $\pm$ 0,359	

Tabelle 2: spontane TNF –  $\alpha$  Konzentrationen nach 1 h Inkubation. Darstellung als MW  $\pm$  SD; n = Anzahl der Seren mit messbarer Zytokinsynthese, ns = nicht signifikant. T1: nach Narkoseeinleitung, T2: 20 min nach EKZ, T3: 6h postoperativ, T4: 24h postoperativ

Messzeitpunkt	Narkoseverfahren	TNF – $\alpha$ [pg/ml]	p	Signifikanz
T1	Propofolgruppe	3,644 $\pm$ 2,746	0,176	ns
	Desflurangruppe	0,114 $\pm$ 0,114		
	Sevoflurangruppe	0,000 $\pm$ 0,000		
T2	Propofolgruppe	0,0870 $\pm$ 0,077	0,837	ns
	Desflurangruppe	0,243 $\pm$ 0,243		
	Sevoflurangruppe	1,248 $\pm$ 1,248		
T3	Propofolgruppe	0,303 $\pm$ 0,259	0,402	ns
	Desflurangruppe	0,649 $\pm$ 0,649		
	Sevoflurangruppe	0,000 $\pm$ 0,000		
T4	Propofolgruppe	0,0135 $\pm$ 0,010	0,598	ns
	Desflurangruppe	0,961 $\pm$ 0,736		
	Sevoflurangruppe	0,359 $\pm$ 0,359		

Tabelle 3: Darstellung der Varianzanalyse zwischen den einzelnen Narkoseverfahren zum Zeitpunkt T 1 – 4. Darstellung als MW  $\pm$  SD; Signifikanzniveau  $p < 0,05$ , ns = nicht signifikant. T1: nach Narkoseeinleitung, T2: 20 min nach EKZ, T3: 6h postoperativ, T4: 24h postoperativ

#### 4.2.1.2 Unstimulierte TNF – $\alpha$ Konzentration nach 24 h Inkubation des Vollblutansatzes

In der folgenden Abbildung sind die spontanen TNF –  $\alpha$  Konzentrationen nach 24 - stündiger Kultur im Vollblutansatz dargestellt.

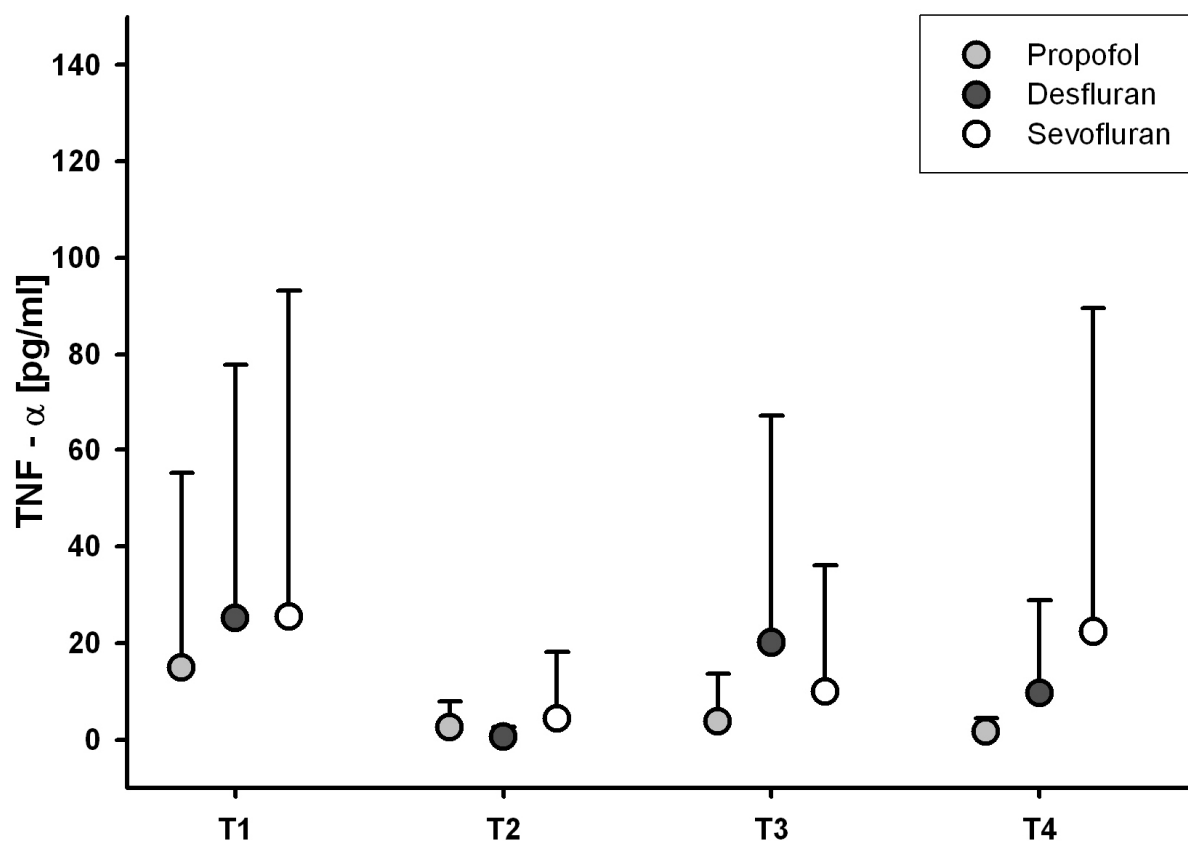


Abbildung 7: spontane TNF –  $\alpha$  Konzentration [pg/ml] nach 24 h Inkubation. Darstellung als MW + SD. T1: nach Narkoseeinleitung, T2: 20 min nach EKZ, T3: 6h postoperativ, T4: 24h postoperativ

Auch nach 24 Stunden Inkubation wurden nur bei weniger als der Hälfte aller untersuchten Patienten messbare Zytokinkonzentrationen oberhalb der ELISA Detektionsgrenze erreicht. Dabei waren die messbaren TNF –  $\alpha$  Konzentrationen im Vergleich zur einstündigen Inkubation auf etwa das zeh- bis zwanzigfache angestiegen. Es zeigten sich weiter große intra- und interindividuelle Unterschiede.

Auch nach 24 Stunden Inkubationszeit kam es zu keinen signifikanten Änderungen der Zytokinkonzentrationen im Verlauf der einzelnen Messzeitpunkte T1 bis T4 (Tabelle 4, Seite 39). Zwischen den drei gewählten Narkoseverfahren gab es an keinem der vier Blutentnahmezeitpunkte signifikante Unterschiede (Tabelle 5, Seite 39).

Narkoseverfahren	Messzeitpunkt	n	TNF – α [pg/ml]	Signifikanz
Propofolgruppe	T1	6	2,134 ± 0,943	ns
	T2	5	2,583 ± 1,219	
	T3	4	3,766 ± 2,274	
	T4	7	1,563 ± 0,676	
Desflurangruppe	T1	5	25,119 ± 12,094	ns
	T2	2	0,651 ± 0,467	
	T3	5	20,082 ± 10,829	
	T4	5	9,626 ± 4,424	
Sevoflurangruppe	T1	4	25,441 ± 16,430	ns
	T2	3	4,418 ± 3,343	
	T3	5	9,921 ± 6,344	
	T4	6	22,343 ± 16,306	

Tabelle 4: spontane TNF – α Konzentrationen nach 24 h Inkubation. Darstellung als MW ± SD; n = Anzahl der Seren mit messbarer Zytokinsynthese, ns = nicht signifikant. T1: nach Narkoseeinleitung, T2: 20 min nach EKZ, T3: 6h postoperativ, T4: 24h postoperativ

Messzeitpunkt	Narkoseverfahren	TNF – α [pg/ml]	p	Signifikanz
T1	Propofolgruppe	2,134 ± 0,943	0,980	ns
	Desflurangruppe	25,119 ± 12,094		
	Sevoflurangruppe	25,441 ± 16,430		
T2	Propofolgruppe	2,583 ± 1,219	0,416	ns
	Desflurangruppe	0,651 ± 0,467		
	Sevoflurangruppe	4,418 ± 3,343		
T3	Propofolgruppe	3,766 ± 2,274	0,773	ns
	Desflurangruppe	20,082 ± 10,829		
	Sevoflurangruppe	9,921 ± 6,344		
T4	Propofolgruppe	1,563 ± 0,676	0,792	ns
	Desflurangruppe	9,626 ± 4,424		
	Sevoflurangruppe	22,343 ± 16,306		

Tabelle 5: Darstellung der Varianzanalyse zwischen den einzelnen Narkoseverfahren zum Zeitpunkt T 1 – 4. Darstellung als MW ± SD; Signifikanzniveau p<0,05, ns = nicht signifikant. T1: nach Narkoseeinleitung, T2: 20 min nach EKZ, T3: 6h postoperativ, T4: 24h postoperativ

#### 4.2.1.3 TNF – $\alpha$ Konzentration nach ex-vivo Stimulation mit LPS

In der folgenden Abbildung sind die TNF –  $\alpha$  Konzentrationen nach ex-vivo Stimulation mit LPS und anschließender 24 - stündiger Inkubation des Vollblutansatzes dargestellt.

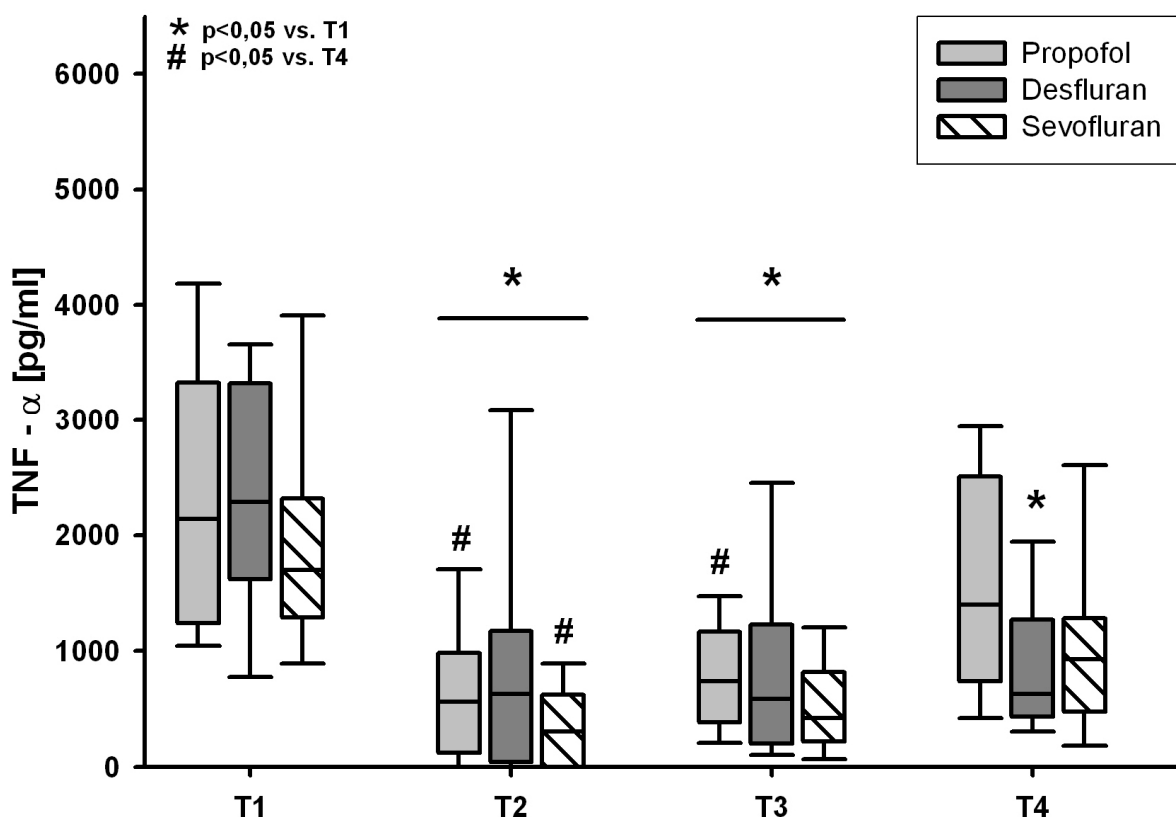


Abbildung 8: TNF –  $\alpha$  Konzentration [pg/ml] nach Stimulation mit LPS und nachfolgender 24 h Inkubation. Ein Stern markiert einen signifikanten Unterschied zum Messzeitpunkt T1, eine Raute markiert einen signifikanten Unterschied zum Messzeitpunkt T4. Signifikanzniveau  $p < 0,05$ . T1: nach Narkoseeinleitung, T2: 20 min nach EKZ, T3: 6h postoperativ, T4: 24h postoperativ

Nach Stimulation mit LPS und nachfolgender Inkubation der Vollblutansätze für 24 Stunden fand sich zum Zeitpunkt T1 (direkt nach Narkoseeinleitung) im Vergleich zu den unstimulierten Proben ein exponentieller Anstieg der TNF –  $\alpha$  Konzentration um das ca. 40 bis 50 fache. Zum Zeitpunkt T2 (20 min nach EKZ) zeigte sich für alle drei untersuchten Narkoseverfahren ein hoch signifikanter Abfall der TNF –  $\alpha$  Konzentration im Vergleich zum Ausgangswert T1 (Propofol- und Desflurangruppe:  $p < 0,001$ ; Sevoflurangruppe:  $p < 0,05$ ). 6 h postoperativ (T3) kam es zwar in allen untersuchten Gruppen zu einem leichten Wiederanstieg der TNF –  $\alpha$  Konzentrationen, die aber im Vergleich zum Ausgangswert immer noch signifikant erniedrigt waren (Propofol- und Desflurangruppe:  $p < 0,001$ ; Sevoflurangruppe:  $p < 0,05$ ). Während unter einer Narkoseführung mit Propofol und Sevofluran die TNF –  $\alpha$  Konzentration zum Zeitpunkt T4 (24 h nach EKZ) nahezu die Ausgangswerte zum Zeitpunkt T1 erreichten und sich von



diesen nicht signifikant unterschieden, blieben die TNF –  $\alpha$  Konzentrationen in der Desflurangruppe weiterhin signifikant reduziert ( $p < 0,001$ ) (Tabelle 6+7, Seite 41+42).

Wurden die nach LPS-Stimulation erreichten TNF –  $\alpha$  Konzentrationen an den Messzeitpunkten T1 – T4 zwischen den Narkoseverfahren verglichen, fanden sich zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede (Tabelle 8, Seite 42).

Narkoseverfahren	Messzeitpunkt	n	TNF – $\alpha$ [pg/ml]
<b>Propofolgruppe</b>	T1	19	2353,614 $\pm$ 288,235
	T2	17	707,287 $\pm$ 145,766
	T3	19	800,459 $\pm$ 108,076
	T4	19	1618,182 $\pm$ 221,324
<b>Desflurangruppe</b>	T1	19	2450,397 $\pm$ 312,064
	T2	17	883,581 $\pm$ 23,393
	T3	19	901,474 $\pm$ 213,511
	T4	19	969,713 $\pm$ 211,968
<b>Sevoflurangruppe</b>	T1	17	2128,231 $\pm$ 419,603
	T2	12	353,189 $\pm$ 84,058
	T3	17	512,314 $\pm$ 93,135
	T4	17	1038,858 $\pm$ 194,684

**Tabelle 6 : TNF –  $\alpha$  Konzentrationen nach LPS-Stimulation und anschließender Inkubation für 24 h. Darstellung als MW  $\pm$  SD; n = Anzahl der Seren mit messbarer Zytokinsynthese. T1: nach Narkoseeinleitung, T2: 20 min nach EKZ, T3: 6h postoperativ, T4: 24h postoperativ**

Narkoseverfahren	Messzeitpunkt	p-Wert	Signifikanz
Propofolgruppe	T1 vs. T2	0,0001	sig
	T1 vs. T3	0,0001	sig
	T1 vs. T4	0,053	ns
	T4 vs. T2	0,003	sig
	T4 vs. T3	0,0001	sig
	T3 vs. T2	1,000	ns
Desflurangruppe	T1 vs. T2	0,0001	sig
	T1 vs. T3	0,0001	sig
	T1 vs. T4	0,001	sig
	T4 vs. T2	1,00	ns
	T4 vs. T3	1,00	ns
	T3 vs. T2	1,00	ns
Sevoflurangruppe	T1 vs. T2	0,006	sig
	T1 vs. T3	0,016	sig
	T1 vs. T4	0,215	ns
	T4 vs. T2	0,012	sig
	T4 vs. T3	0,061	ns
	T3 vs. T2	0,076	ns

Tabelle 7: Darstellung des zeitlichen Verlaufs T1 – T4 für die einzelnen Narkoseverfahren. Im paarweisen Vergleich, basierend auf den geschätzten Randmitteln. Anpassung für Mehrfachvergleiche: Bonferroni. Signifikanzniveau  $p < 0,05$ . T1: nach Narkoseeinleitung, T2: 20 min nach EKZ, T3: 6h postoperativ, T4: 24h postoperativ

Messzeitpunkt	Narkoseverfahren	TNF – $\alpha$ [pg/ml]	p	Signifikanz
T1	Propofolgruppe	2353,614 $\pm$ 288,235	0,379	ns
	Desflurangruppe	2450,397 $\pm$ 312,064		
	Sevoflurangruppe	2128,231 $\pm$ 419,603		
T2	Propofolgruppe	707,287 $\pm$ 145,766	0,125	ns
	Desflurangruppe	883,581 $\pm$ 23,393		
	Sevoflurangruppe	353,189 $\pm$ 84,058		
T3	Propofolgruppe	800,459 $\pm$ 108,076	0,235	ns
	Desflurangruppe	901,474 $\pm$ 213,511		
	Sevoflurangruppe	512,314 $\pm$ 93,135		
T4	Propofolgruppe	1618,182 $\pm$ 221,324	0,060	ns
	Desflurangruppe	969,713 $\pm$ 211,968		
	Sevoflurangruppe	1038,858 $\pm$ 194,684		

Tabelle 8: Darstellung der Varianzanalyse zwischen den einzelnen Narkoseverfahren zum Zeitpunkt T 1 – 4. Darstellung als MW  $\pm$  SD; Signifikanzniveau  $p < 0,05$ , ns = nicht signifikant. T1: nach Narkoseeinleitung, T2: 20 min nach EKZ, T3: 6h postoperativ, T4: 24h postoperativ

## 4.2.2 Interleukin – 10

### 4.2.2.1 Unstimulierte IL – 10 Konzentration nach 1 h Inkubation

In der folgenden Abbildung sind die spontanen IL – 10 Konzentrationen im Blut nach einstündiger Kultur im Vollblutansatz dargestellt.

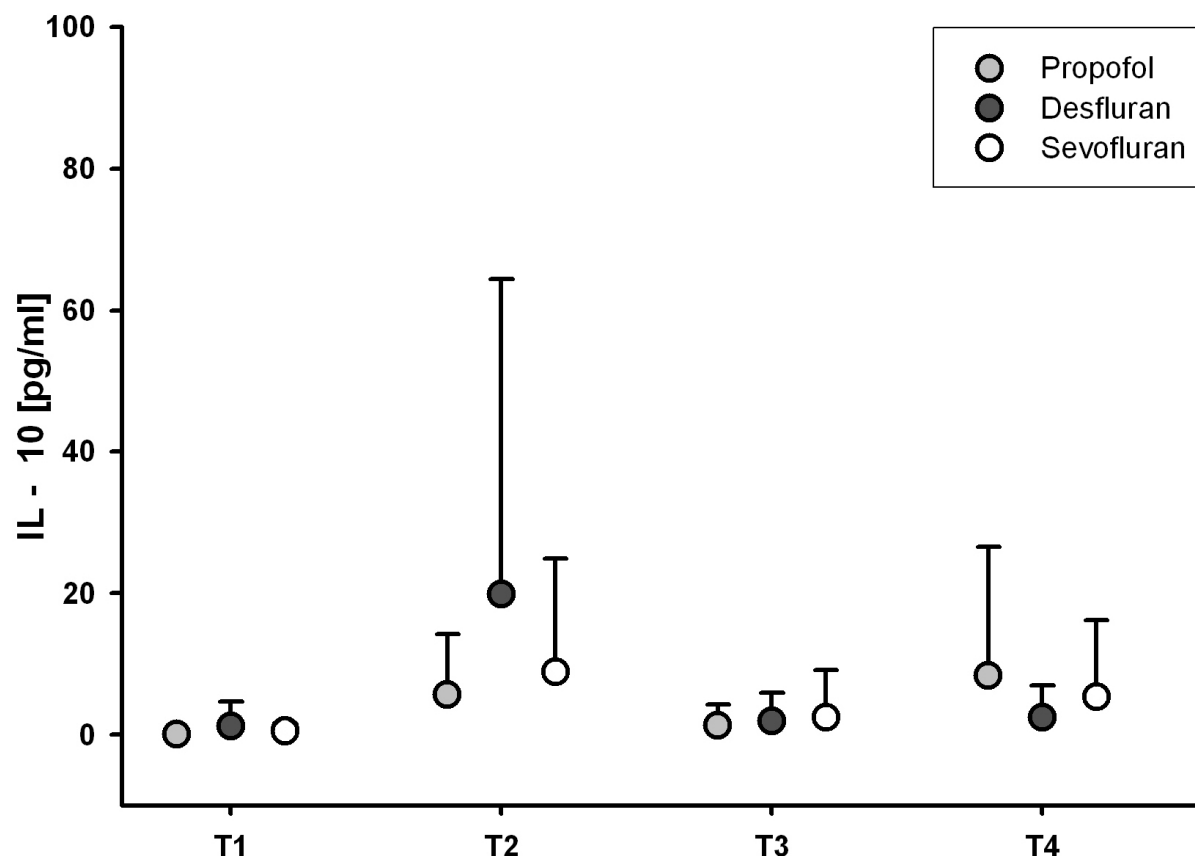


Abbildung 9: spontane IL – 10 Konzentration [pg/ml] nach 1 h Inkubation. Darstellung als MW + SD. T1: nach Narkoseeinleitung, T2: 20 min nach EKZ, T3: 6h postoperativ, T4: 24h postoperativ

Im unstimulierten Vollblutansatz konnten nach 1 h Inkubation direkt nach Narkoseeinleitung (T1) nur bei weniger als fünf Patienten pro Untersuchungsgruppe messbare Konzentrationen von IL – 10 über der Detektionsgrenze festgestellt werden. 20 min nach EKZ (T2) fand sich unabhängig vom gewählten Narkoseverfahren eine Erhöhung der IL – 10 Konzentrationen um das bis zu 20 fache von den Ausgangswerten. Bei den gemessenen Einzelwerten zeigten sich dabei teilweise große intra- und interindividuelle Unterschiede in den gemessenen Zytokinkonzentrationen.

Bei Analyse der zeitlichen Verläufe T1 bis T4 zeigten sich innerhalb der einzelnen Narkoseverfahren Propofol, Desfluran und Sevofluran keine signifikanten Veränderungen der IL – 10 Konzentrationen (Tabelle 9, Seite 43). Auch zwischen den drei verschiedenen

Narkoseverfahren gab es zu den vier untersuchten Messzeitpunktezeitpunkte T1 bis T4 keinerlei signifikante Unterschiede (Tabelle 10).

Narkoseverfahren	Messzeitpunkt	n	IL – 10 [pg/ml]	Signifikanz
Propofolgruppe	T1	1	0,857 ± 0,0857	ns
	T2	8	10,964 ± 5,995	
	T3	6	1,356 ± 0,680	
	T4	9	8,378 ± 4,179	
Desflurangruppe	T1	3	1,269 ± 0,779	ns
	T2	9	19,839 ± 10,233	
	T3	5	1,948 ± 0,917	
	T4	7	2,446 ± 1,034	
Sevoflurangruppe	T1	4	0,552 ± 0,265	ns
	T2	6	10,037 ± 3,898	
	T3	4	2,456 ± 1,613	
	T4	8	5,313 ± 2,633	

Tabelle 9: spontane IL – 10 Konzentrationen nach 1 h Inkubation. Darstellung als MW ± SD; n = Anzahl der Seren mit messbarer Zytokinsynthese, ns = nicht signifikant. T1: nach Narkoseeinleitung, T2: 20 min nach EKZ, T3: 6h postoperativ, T4: 24h postoperativ

Messzeitpunkt	Narkoseverfahren	IL – 10 [pg/ml]	p	Signifikanz
T1	Propofolgruppe	0,857 ± 0,0857	0,307	ns
	Desflurangruppe	1,269 ± 0,779		
	Sevoflurangruppe	0,552 ± 0,265		
T2	Propofolgruppe	10,964 ± 5,995	0,856	ns
	Desflurangruppe	19,839 ± 10,233		
	Sevoflurangruppe	10,037 ± 3,898		
T3	Propofolgruppe	1,356 ± 0,680	0,984	ns
	Desflurangruppe	1,948 ± 0,917		
	Sevoflurangruppe	2,456 ± 1,613		
T4	Propofolgruppe	8,378 ± 4,179	0,691	ns
	Desflurangruppe	2,446 ± 1,034		
	Sevoflurangruppe	5,313 ± 2,633		

Tabelle 10: Darstellung der Varianzanalyse zwischen den einzelnen Narkoseverfahren zum Zeitpunkt T 1 – 4. Darstellung als MW ± SD; Signifikanzniveau p<0,05, ns = nicht signifikant. T1: nach Narkoseeinleitung, T2: 20 min nach EKZ, T3: 6h postoperativ, T4: 24h postoperativ

#### 4.2.2.2 Unstimulierte IL – 10 Konzentration nach 24 h Inkubation

In der folgenden Abbildung sind die spontanen IL – 10 Konzentrationen nach 24 h Kultur im Vollblutansatz dargestellt.

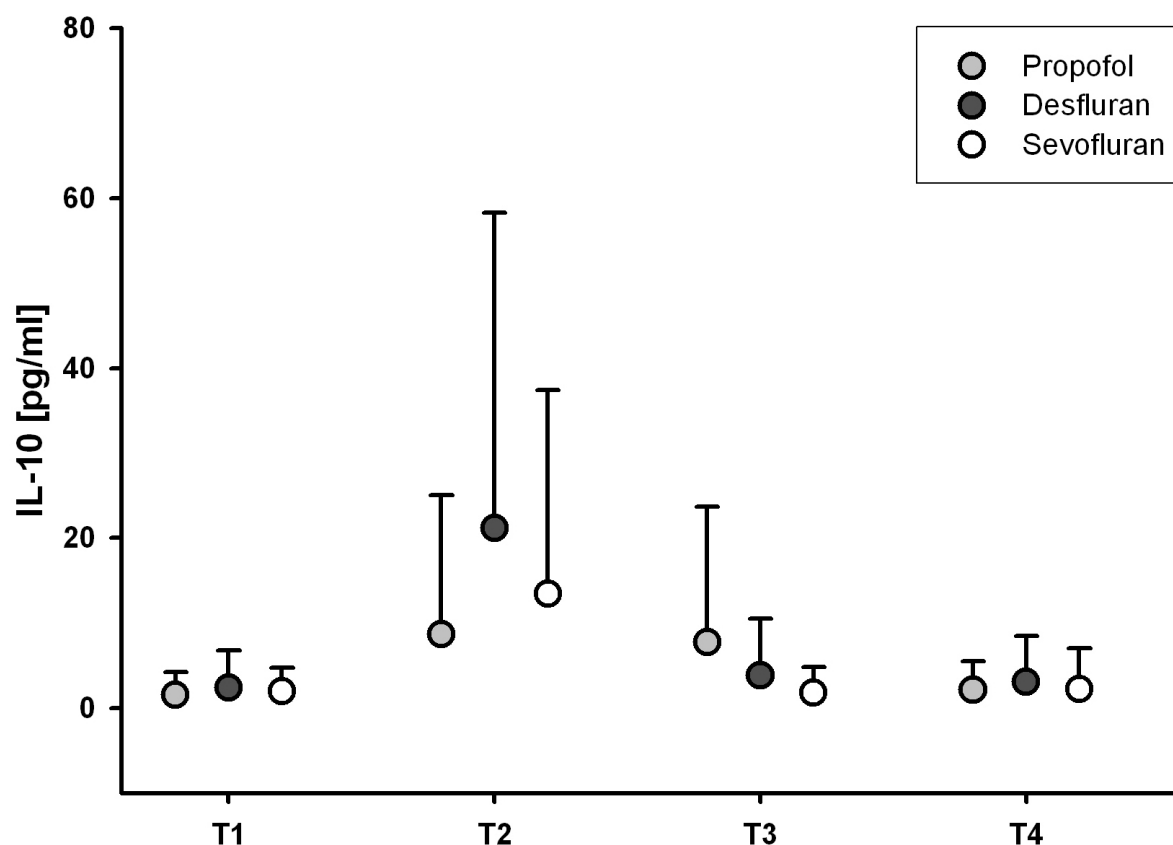


Abbildung 10: spontane IL – 10 Konzentration [pg/ml] nach 24 h Inkubation. Darstellung als MW + SD. T1: nach Narkoseeinleitung, T2: 20 min nach EKZ, T3: 6h postoperativ, T4: 24h postoperativ

Nach 24 - stündiger Inkubation konnte zu allen gewählten Messzeitpunkten bei etwas weniger als der Hälfte aller Patienten eine messbare IL – 10 Ausschüttung festgestellt werden. Es zeigten sich teilweise große intra- und interindividuelle Unterschiede in den gemessenen Zytokinkonzentrationen. Auch nach 24 h Inkubation zeigt sich 20 min nach EKZ (T2) unabhängig vom gewählten Narkoseverfahren ein Anstieg der IL – 10 Konzentrationen um das bis zu 20 fache vom Ausgangswert, jedoch ohne das Signifikanzniveau zu überschreiten. Es zeigten sich, keine signifikanten Änderungen der Zytokinkonzentrationen im Verlauf der einzelnen Messzeitpunkte T1 bis T4 (Tabelle 11, Seite 46). Zwischen den drei gewählten Narkoseverfahren gab es an keinem der vier Blutentnahmezeitpunkte signifikante Unterschiede (Tabelle 12, Seite 46).

Narkoseverfahren	Messzeitpunkt	n	IL – 10 [pg/ml]	Signifikanz
Propofolgruppe	T1	5	1,423 ± 0,670	ns
	T2	10	12,205 ± 5,566	
	T3	6	1,409 ± 0,580	
	T4	13	9,434 ± 3,093	
Desflurangruppe	T1	5	2,277 ± 0,947	ns
	T2	9	13,021 ± 6,010	
	T3	6	2,494 ± 1,291	
	T4	7	2,847 ± 1,134	
Sevoflurangruppe	T1	6	7,184 ± 5,599	ns
	T2	11	18,399 ± 6,394	
	T3	5	12,273 ± 10,030	
	T4	8	8,294 ± 3,162	

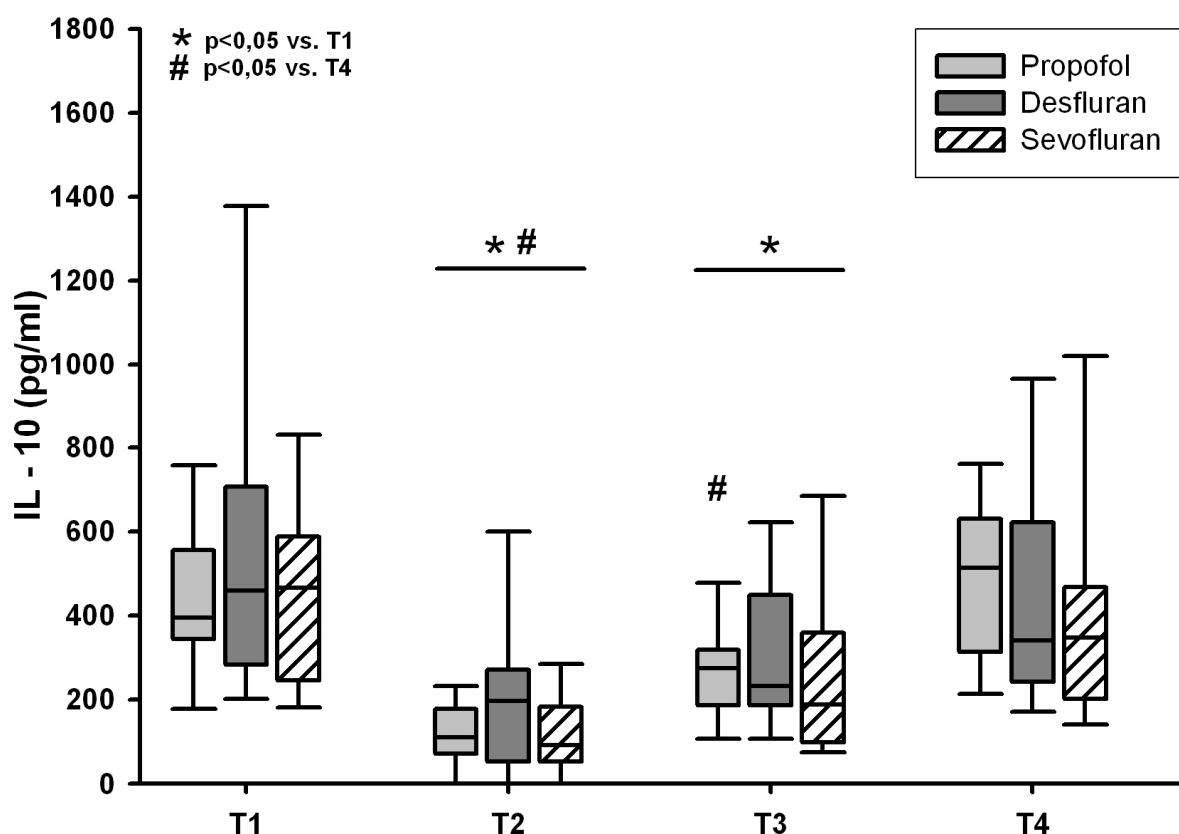
Tabelle 11: spontane IL – 10 Konzentrationen nach 24 h Inkubation. Darstellung als MW ± SD; n = Anzahl der Seren mit messbarer Zytokinsynthese, ns = nicht signifikant. T1: nach Narkoseeinleitung, T2: 20 min nach EKZ, T3: 6h postoperativ, T4: 24h postoperativ

Messzeitpunkt	Narkoseverfahren	IL – 10 [pg/ml]	p	Signifikanz
T1	Propofolgruppe	1,423 ± 0,670	0,774	ns
	Desflurangruppe	2,277 ± 0,947		
	Sevoflurangruppe	7,184 ± 5,599		
T2	Propofolgruppe	12,205 ± 5,566	0,483	ns
	Desflurangruppe	13,021 ± 6,010		
	Sevoflurangruppe	18,399 ± 6,394		
T3	Propofolgruppe	1,409 ± 0,580	0,972	ns
	Desflurangruppe	2,494 ± 1,291		
	Sevoflurangruppe	12,273 ± 10,030		
T4	Propofolgruppe	9,434 ± 3,093	0,197	ns
	Desflurangruppe	2,847 ± 1,134		
	Sevoflurangruppe	8,294 ± 3,162		

Tabelle 12: Darstellung der Varianzanalyse zwischen den einzelnen Narkoseverfahren zum Zeitpunkt T 1 – 4. Darstellung als MW ± SD; Signifikanzniveau p<0,05, ns = nicht signifikant. T1: nach Narkoseeinleitung, T2: 20 min nach EKZ, T3: 6h postoperativ, T4: 24h postoperativ

#### 4.2.2.3 IL – 10 Konzentration nach ex-vivo Stimulation mit LPS

In der folgenden Abbildung sind die IL – 10 Konzentrationen im Blut nach ex-vivo Stimulation mit LPS und anschließender 24 - stündiger Kultur im Vollblutansatz dargestellt.



A

Abbildung 11: IL – 10 Konzentration [pg/ml] nach Stimulation mit LPS und nachfolgender 24 h Inkubation. Ein Stern markiert einen signifikanten Unterschied zum Messzeitpunkt T1, eine Raute markiert einen signifikanten Unterschied zum Messzeitpunkt T4. Signifikanzniveau  $p < 0,05$ . T1: nach Narkoseeinleitung, T2: 20 min nach EKZ, T3: 6h postoperativ, T4: 24h postoperativ

Nach Stimulation mit LPS und nachfolgender Inkubation der Vollblutansätze für 24 Stunden kam es zum Zeitpunkt T1 (direkt nach Narkoseeinleitung, Referenzwert) gegenüber den unstimulierten Proben zu einem exponentiellen Anstieg der IL – 10 Konzentration, um das ca. 30 bis 40 fache. Zum Zeitpunkt T2 (20 min nach EKZ) zeigte sich für alle drei untersuchten Narkoseverfahren ein hoch signifikanter Abfall der IL – 10 Konzentration im Vergleich zu Ausgangswert T1 (Propofol-, Desfluran- und Sevoflurangruppe:  $p < 0,001$ ). 6 h postoperativ (T3) kam es in allen untersuchten Gruppen zu einem leichten Wiederanstieg der IL – 10 Konzentration, der allerdings in allen drei untersuchten Narkosegruppen zum Ausgangswert T1 signifikant erniedrigt blieb (Propofolgruppe  $p < 0,022$ ; Desflurangruppe:  $p < 0,03$  und Sevoflurangruppe:  $p < 0,003$ ).

Narkoseverfahren	Messzeitpunkt	n	IL – 10 [pg/ml]
Propofolgruppe	T1	19	460,401 ± 50,926
	T2	17	126,515 ± 18,899
	T3	19	275,009 ± 33,996
	T4	19	491,532 ± 46,375
Desflurangruppe	T1	19	560,233 ± 88,135
	T2	17	197,316 ± 43,896
	T3	19	326,955 ± 44,032
	T4	19	447,575 ± 70,534
Sevoflurangruppe	T1	17	447,421 ± 52,453
	T2	12	126,054 ± 32,176
	T3	17	269,228 ± 53,214
	T4	19	410,301 ± 69,140

Tabelle 13: Tabelle 6 : IL – 10 Konzentrationen nach LPS-Stimulation und anschließender Inkubation für 24 h. Darstellung als MW ± SD; n = Anzahl der Seren mit messbarer Zytokinsynthese. T1: nach Narkoseeinleitung, T2: 20 min nach EKZ, T3: 6h postoperativ, T4: 24h postoperativ

Narkoseverfahren	Messzeitpunkt	p-Wert	Signifikanz
Propofolgruppe	T1 vs. T2	0,0001	sig
	T1 vs. T3	0,022	sig
	T1 vs. T4	1,00	ns
	T4 vs. T2	0,0001	sig
	T4 vs. T3	0,001	sig
	T3 vs. T2	0,001	sig
Desflurangruppe	T1 vs. T2	0,0001	sig
	T1 vs. T3	0,030	sig
	T1 vs. T4	1,00	ns
	T4 vs. T2	0,002	sig
	T4 vs. T3	0,058	ns
	T3 vs. T2	0,025	sig
Sevoflurangruppe	T1 vs. T2	0,001	sig
	T1 vs. T3	0,003	sig
	T1 vs. T4	0,727	ns
	T4 vs. T2	0,028	sig
	T4 vs. T3	0,251	ns
	T3 vs. T2	0,020	sig

Tabelle 14: Darstellung des zeitlichen Verlaufs T1 – T4 für die einzelnen Narkoseverfahren. Im paarweisen Vergleich, basierend auf den geschätzten Randmitteln. Anpassung für Mehrfachvergleiche: Bonferroni. Signifikanzniveau  $p < 0,05$ . T1: nach Narkoseeinleitung, T2: 20 min nach EKZ, T3: 6h postoperativ, T4: 24h postoperativ



In allen untersuchten Gruppen kam es 24 h nach EKZ (T4) zu einem Wiederanstieg der Zytokinwerte auf das Ausgangsniveau (Tabelle 13, Seite 48 und Tabelle 14 Seite 49). Zwischen den drei gewählten Narkoseverfahren mit Propofol, Desfluran und Sevofluran, zeigten sich an keinem der Messzeitpunktezeitpunkte T1 bis T4 signifikante Unterschiede (Tabelle 14+15, Seite 49).

Messzeitpunkt	Narkoseverfahren	IL – 10 [pg/ml]	p	Signifikanz
T1	Propofolgruppe	460,401± 50,926	0,927	ns
	Desflurangruppe	560,233 ± 88,135		
	Sevoflurangruppe	447,421 ± 52,453		
T2	Propofolgruppe	126,515 ± 18,899	0,350	ns
	Desflurangruppe	197,316 ± 43,896		
	Sevoflurangruppe	126,054 ± 32,176		
T3	Propofolgruppe	275,009 ± 33,996	0,590	ns
	Desflurangruppe	326,955 ± 44,032		
	Sevoflurangruppe	269,228 ± 53,214		
T4	Propofolgruppe	491,532 ± 46,375	0,235	ns
	Desflurangruppe	447,575 ± 70,534		
	Sevoflurangruppe	410,301 ± 69,140		

**Tabelle 15: Darstellung der Varianzanalyse zwischen den einzelnen Narkoseverfahren zum Zeitpunkt T 1 – 4. Darstellung als MW ± SD; Signifikanzniveau p<0,05, ns = nicht signifikant. T1: nach Narkoseeinleitung, T2: 20 min nach EKZ, T3: 6h postoperativ, T4: 24h postoperativ**

## 5 Diskussion

Die vorliegende Arbeit hatte zum Ziel, verschiedene Narkoseverfahren mit Propofol, Desfluran und Sevofluran auf die Freisetzung der Zytokine TNF –  $\alpha$  und IL – 10 bei aortokoronaren Bypassoperationen unter Anwendung der Herzlungenmaschine in einem Zeitraum von 20 min nach EKZ bis 24 h postoperativ zu untersuchen.

Da die Reaktion der PBMC auf einen zweiten Stimulus einen entscheidenden Einfluss auf das Outcome der Patienten hat, wurde neben der Messung der spontanen Zytokinplasmaspiegel auch die Zytokinausschüttung nach Stimulation mit bakteriellem Endotoxin untersucht.

### 5.1 Wertung der Methodik

#### 5.1.1 Patienten

Die Auswahl der Patienten für diese Untersuchung erfolgte nach den üblichen Kriterien für klinische Studien bei koronarchirurgischen Patienten. Erkrankungen, die den Immunstatus der Patienten beeinflussen könnten, wie Tumorerkrankungen und chronische Entzündungen, wurden in die Ausschlusskriterien aufgenommen. Da die immunologischen Untersuchungen wegen des methodischen und materiellen Aufwands nur an einer relativ kleinen Anzahl von Patienten möglich waren, wurden die Ausschlusskriterien bewusst so gewählt, dass die untersuchten Patienten einem homogenen und typischen Kollektiv von Patienten zur aortokoronaren Revaskularisation entsprachen. So wurden Patienten mit instabiler Angina pectoris und/oder einem weniger als drei Monate zurückliegendem Myokardinfarkt von der Untersuchung ausgeschlossen, da sich bei bis zu 50 % dieser Patienten bereits spontan erhöhte Konzentrationen proinflammatorischer Zytokine wie TNF –  $\alpha$  nachweisen lassen (32, 120). Auch die IL – 10 Plasmaspiegel können durch vorausgegangene kardiovaskuläre Ereignisse beeinflusst werden (43, 109).

Patienten die immunologisch wirksame Medikamente einnahmen, wie z.B. Glukokortikoide und Sulfonylharnstoffe, wurden ebenfalls nicht in die Studie eingeschlossen. Bei Patienten die unter einer KHK Begleitmedikation, mit Beta-Blockern, Calcium-Antagonisten oder Nitraten standen, wurde die Medikation belassen.

### 5.1.2 Anästhesieverfahren

Prämedikation und Narkoseeinleitung waren für die Patienten standardisiert und entsprachen den allgemein anerkannten Richtlinien bei aortokoronarer Revaskularisationschirurgie.

Die Prämedikation erfolgte bei allen eingeschlossenen Patienten am Abend vor dem geplanten Eingriff mit Nitrazepam (Mogadan®, Hoffmann-La Roche AG; Grenzach-Wyhlen) und 60 – 90 Minuten vor Beginn der Einleitung mit 1 mg Flunitrazepam (Rohypnol®, Hoffman-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen), dem gängigen Standard entsprechend.

Die Verabreichung von Cephalosporinen, wie dem hier direkt nach Narkoseeinleitung verwendeten Cefuroxim, beeinflusst die Ausschüttung von IL – 10 nach LPS-Stimulation (130). Da jedoch alle 63 Patienten, unabhängig von der zu untersuchenden Gruppe, die gleiche Menge dieses Antibiotikums erhielten, ist dieser Effekt zu vernachlässigen.

Vor Beginn und nach Beendigung der EKZ wurde die Narkose gemäß randomisierter Gruppenzugehörigkeit mit Desfluran, Sevofluran oder Propofol aufrechterhalten. Die Narkoseführung während der Zeit der EKZ erfolgte für alle Patienten unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit standardisiert nach allgemein akzeptierten Verfahren bei chirurgischen Eingriffen zur aortokoronaren Revaskularisation. Obwohl alle Patienten während der Zeit des kardiopulmonalen Bypasses aus technischen Gründen mit Propofol anästhesiert wurden, blieben signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen bestehen. Bei strikterer Trennung der Narkoseverfahren wären die gemachten Beobachtungen möglicherweise noch deutlicher ausgefallen.

### 5.1.3 Extrakorporale Zirkulation

Die kardiale Ischämie während der aortalen Klemmzeit und der Kontakt des Blutes zu artifiziellen Oberflächen führen bei der Verwendung der Herzlungenmaschine zum wesentlichen immunologischen Reiz (42, 61). Die im Rahmen anderer Studien gemessenen deutlich höher gemessenen Zytokinkonzentrationen können am ehesten auf die im Vergleich zu unserer Untersuchung erheblich längeren Operations-, EKZ-, und Aortenklemmzeiten zurückgeführt werden.

Wird die EKZ unter normothermen Bedingungen durchgeführt, kommt es zu einer vermehrten Freisetzung des proinflammatorischen Zytokins TNF –  $\alpha$  (85). Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurden alle eingeschlossenen Patienten während EKZ in mäßiger Hypothermie von 32 °C operiert, wodurch dieser Effekt unterdrückt wird.

Unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit betrug das Füllvolumen der Herzlungenmaschine 1500 ml Ringer-Lactat und 500 ml Gelatine 4%. Jansen et al. konnten zeigen, dass der Zusatz

von Gelatinelösung im Rahmen der EKZ ohne Auswirkung auf die Zytokinausschüttung bleibt (59).

#### **5.1.4 Messzeitpunkte**

Der Zeitraum der Untersuchung war durch vier festgelegte Messzeitpunkte definiert (T1 bis T4) und umfasste eine Zeitspanne von Narkoseeinleitung (T1) bis 24 h postoperativ (T4). Die Messzeitpunkte sollten verschiedene Phasen im perioperativen Verlauf einer Revaskularisation mit ihren spezifischen Einflüssen auf die pro- und antiinflammatorischen Zytokine TNF –  $\alpha$  und IL – 10 erfassen. Der Messzeitpunkt T1 erfolgte bei allen Patienten als präoperativer Referenzwert nach standardisierter Narkoseeinleitung. Ein solcher Referenzwert ist, insbesondere vor dem Hintergrund der großen interindividuellen Variabilität, wie z.B. aufgrund von Allelpolymorphismen der zytokincodierenden Gene, bedeutsam. Der Messzeitpunkt T2, 20 Minuten nach EKZ, sollte die Auswirkungen der EKZ auf die Zytokinantwort evaluieren. Die Messzeitpunkte T3, 6 Stunden, und T4, 24 Stunden postoperativ, dienten der Beurteilung der klinischen und immunologischen Erholung nach der ausgelösten Immunreaktion mit Evaluation eventueller Unterschiede des randomisierten Narkoseverfahrens.

Aufgrund der kurzen biologischen Halbwertszeiten der untersuchten Zytokine können Veränderungen der Zytokinkonzentrationen zwischen den gewählten Messzeitpunkten und nach dem letzten Messzeitpunkt jedoch nicht ausgeschlossen werden (46, 51).

#### **5.1.5 Messmethodik**

Nach Entnahme der Blutproben erfolgte die unverzügliche Kühlung auf Eis und die unmittelbare Verarbeitung der Proben im Labor, so dass eine Verfälschung der Ergebnisse durch lagerungsbedingte Einflüsse auszuschließen war.

Die Analyse der spontanen und der durch LPS-Stimulation beeinflussten Zytokinbildung und -freisetzung mononukleärer Zellen erfolgte in Vollblutkulturen, die aus Blutproben angesetzt wurden, die zu den Zeitpunkten T1 – T4 entnommen worden waren. Der Ansatz dieser Vollblutkulturen wurde dabei in Anlehnung an ein von Wilson und Mitarbeitern 1991 beschriebenes Vorgehen, modifiziert nach Kleinschmidt et al., durchgeführt (68, 123), das auf der Beobachtung beruht, dass die Lebensfähigkeit und Funktion mononukleärer Zellen in einem 1 : 5 verdünnten Vollblutansatz für mindestens 72 Stunden erhalten bleibt (123). In den

letzten Jahren hat diese Technik des Vollblutansatzes zunehmend an Bedeutung gewonnen, da sie in einer in-vitro-(ex-vivo)-Kultur die Untersuchung der Funktion mononukleärer Zellen unter ihren physiologischen Umgebungsbedingungen und somit bei weitgehend erhaltenen Blutzellrelationen und Regulationsmechanismen erlaubt. Eine gewisse Limitierung ergibt sich jedoch durch das Fehlen der physiologischen Gefäßwände und damit dem Fehlen der Zellwand-Blutzell-Interaktion.

Ein weiterer Vorteil gegenüber den Kulturen isolierter Zellen besteht darin, dass die Ergebnisse nicht durch zelluläre Aktivierungsphänomene beeinflusst werden können, die im Rahmen der Zellisolation z.B. über Dichtezentrifugation nicht auszuschließen sind. Weiter bietet dieses Verfahren die Möglichkeit, mit relativ kleinen Blutmengen alle nötigen Untersuchungen durchzuführen und dadurch zusätzliche Belastungen des Patienten durch die Entnahme großer Blutvolumina zu vermeiden.

Die Analyse der Plasmakonzentration der Zytokine TNF –  $\alpha$  und IL – 10 erfolgte mit spezifischen, kommerziell erhältlichen ELISA-Kits, die in der quantitativen Zytokindiagnostik zu den Standardanalyseverfahren zählen. Die verwendeten ELISA-Kits arbeiten nach dem Prinzip des „Sandwich“-Verfahrens, bei dem das zu bestimmende Zytokin zwischen zwei Antikörpern eingebettet wird, die an unterschiedliche Epitope der Zytokine binden. Die Analyseverfahren umgehen das Problem der Spezifität biologischer Zytokinmessverfahren, da verschiedene Zytokine vielfach vergleichbare Zellreaktionen auslösen können. Andererseits werden im ELISA immunreaktive Zytokine erfasst, die nicht zwingend biologisch aktiv sind.

## 5.2 Diskussion der Ergebnisse

Zelluläre und humorale Immunreaktionen können wahrscheinlich wesentlich den Operationserfolg und die postoperative Genesung nach chirurgischen Eingriffen beeinflussen. (132). Die Bedeutung dieser immunologischen Reaktionen bei der Entwicklung einer generalisierten Entzündungsreaktion nach herzchirurgischen Eingriffen war in den letzten Jahren immer wieder Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen (45, 68, 91, 115, 118). Die Wirkungsprofile verschiedener, von anästhesiologischer Seite verabreichter Medikamente, wie z.B. der volatilen Anästhetika, und die daraus resultierende Möglichkeit einer vorteilhaften oder nachteiligen Beeinflussung der myokardialen Funktion und des Gesamtorganismus sind seit langem Gegenstand zahlreicher Untersuchungen (28, 36, 61, 127, 128).

Die Ausschüttung der einzelnen pro- und antiinflammatorischen Zytokine während eines Entzündungsprozesses darf nicht isoliert betrachtet werden, sondern stellt in ihrer „Balance“ ein facettenreiches Geschehen dar, das für die biologische Wirkung von entscheidender Bedeutung sein kann. Daher ist zur Interpretation der erhobenen Messwerte nicht der einzelne, zu einem Zeitpunkt erhobene Absolutwert, sondern vielmehr die Konzentrationsverläufe über die Zeit, sowie deren Mengenverhältnis zueinander, von großer Bedeutung (42, 132).

Eine exzessive Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen kann möglicherweise postoperativ zu einer Beeinträchtigung von Organfunktionen führen. Trotzdem ist die Produktion von proinflammatorischen Zytokinen im Rahmen der Infektionsabwehr oder bei der Wundheilung von zentraler Bedeutung. So war es Echtenacher et. al in einem Tiermodell an TNF –  $\alpha$  defizienten Mäusen möglich, die Relevanz einer ausreichenden proinflammatorischen Zytokinantwort darzustellen. Mäuse ohne TNF –  $\alpha$  hatten eine signifikant höhere Mortalität verglichen mit immunkompetenten Tieren (35). Während diese Beobachtung eher im Bezug auf lokale bakterielle Stimuli zuzutreffen scheint, kann bei einer systemischen Entzündung ein Überwiegen der antiinflammatorischen Immunantwort von Vorteil sein. So konnte die Arbeitsgruppe um Tracey an einem Kollektiv von Pavianen, die vor Induktion eines septischen Schocks passiv gegen das TNF –  $\alpha$  Analogon Cachetin immunisiert wurden zeigen, dass es zu einer signifikant geringeren Mortalität kommt, als bei den nur mit einem Vehikel behandelten Paviangruppe (113). Ebenfalls konnte an Kindern, die

an einer Meningokokkenmeningitis erkrankten, die mit einer hohen Endotoxin- und TNF –  $\alpha$  Konzentrationen einhergeht, gezeigt werden, dass eine Behandlung mit Anti – TNF, wie z.B. BPI (Bactericidal/permeability-increasing protein) zu einer Verringerung der Mortalität führen kann (73).

Um eine ausreichend normale Organfunktion zu gewährleisten, ist offenbar nicht nur eine ausreichende proinflammatorische Antwort sondern auch eine adäquat kompensatorische antiinflammatorische Gegenregulation notwendig. Kommt es jedoch zu einer überschießenden Bildung von antiinflammatorischen Mediatoren, kann daraus möglicherweise eine relative Immunparalyse und somit eine erhöhte Infektanfälligkeit des Organismus resultieren. Dieses schon im Vorfeld beschriebene und als „compensatory anti-inflammatory response syndrome“ (CARS) bezeichnete Krankheitsbild kann einen Patienten ebenso gefährden wie ein „systemic inflammatory response syndrom“ (8). In welcher Weise der Organismus auf die angreifenden Noxen reagiert und ob ein Gleichgewicht zwischen pro- und antiinflammatorisch wirksamen Mediatoren erreicht wird, ist von zentraler Bedeutung für die Heilungschancen des Patienten (9).

Durch die extrakorporale Zirkulation während herzchirurgischer Eingriffe kommt es durch eine Vielzahl pathophysiologischer Veränderungen zur Ausbildung einer Entzündungsreaktion (27, 54, 114). Bei leichten und zeitlich limitierten Fällen spricht man von einem „Post Perfusions Syndrom“ (PPS), das bei fast einem Viertel aller herzchirurgischen Patienten zu beobachten ist. In ca. 10 % der Fälle endet das PPS im Vollbild eines SIRS. Je nach Ausprägung, Verlauf und Schweregrad dieser generalisierten Entzündungsreaktion kann es zur Ausbildung eines Multi-Organ-Versagens kommen (18, 84). Für die Entstehung dieser generalisierten Entzündungsreaktion bei Anwendung der EKZ ist die Aktivierung des Komplementsystems und weiterer Kaskadensysteme verantwortlich, die zu einer Aktivierung von peripheren mononukleären Zellen und Endothelzellen führen. „Aktivierungstrigger“ sind materialabhängige Faktoren, der Kontakt des Blutes mit fremden, nicht physiologischen Oberflächen sowie materialunabhängige Faktoren wie z.B. das Operationstrauma (18, 41, 66). Weitere Kenntnisse über die Aktivierung von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen, mit der Folge einer signifikant erhöhten stimulierbaren Zytokinantwort, konnten bei Dialysepatienten mit chronischem Nierenversagen gewonnen werden (44). Ferner müssen noch Stimuli, wie die systemische Translokation von Endotoxinen aus dem Gastrointestinaltrakt, die ebenfalls zu einer Aktivierung von

proinflammatorischen Zytokinen führt, in Betracht gezogen werden (62, 89). Vorausgegangene Untersuchungen konnten zeigen, dass neben Endotoxin auch Ischämie zu einer Freisetzung von Zytokinen führt (95).



### 5.2.1 Spontane Zytokinfreisetzung bei aortokoronarer Bypassoperation

In der vorliegenden Studie war nur bei wenigen Patienten bereits nach der Narkoseeinleitung (T1) eine spontane Freisetzung von pro- oder antiinflammatorischen Zytokinen nachweisbar, wobei sich die Plasmaspiegel in niedrigen Konzentrationen bewegten oder sogar unterhalb des Detektionslimits der verwendeten ELISA's lagen. 20 Minuten nach Ende der extrakorporalen Zirkulation (T2) waren die Plasmaspiegel von TNF –  $\alpha$  nicht signifikant gegenüber den Werten vor Beginn der Operation verändert. Jedoch fand sich zu diesem Zeitpunkt für die unstimulierten IL – 10 Konzentrationen ein Anstieg um das bis zu 20 fache im Vergleich zu den Referenzwerten, aber ebenfalls ohne signifikante Unterschiede zu den Referenzwerten. Auch zwischen den einzelnen untersuchten Narkoseverfahren gab es keinerlei signifikante Unterschiede, so dass die im Rahmen dieser Studie durchgeführten Messungen der Plasmaspiegel von IL – 10 und TNF –  $\alpha$  im unstimulierten Vollblutansatz wenig Aufschluss über den Verlauf der Synthese während des Beobachtungszeitraums gaben.

Andere Arbeitsgruppen gelangten ebenfalls nicht zu richtungsweisenden Ergebnissen bezüglich der unstimulierten TNF –  $\alpha$  Synthese nach Ende der extrakorporalen Zirkulation (106, 119). In einer Untersuchung von Borgermann et al. zeigte sich bei keinem der in die Studie einbezogenen Patienten im unstimulierten Vollblutansatz eine messbare TNF –  $\alpha$  Konzentration (11). Zum gleichen Ergebnis kam Ziegeler et al., die weder unstimuliertes TNF –  $\alpha$  noch IL – 10 bis 24 h nach EKZ nachweisen konnten (131). Allerdings gelang es weiteren Autoren, eine signifikant erhöhte spontane Freisetzung von IL – 6, IL – 8 und IL – 10 im Vergleich zu einem Referenzwert vor EKZ nachzuweisen, jedoch war auch hier TNF –  $\alpha$  nicht bzw. nur in geringem Maß messbar (77, 79, 86). Eine vergleichbar antiinflammatorische Gegenregulation durch das Zytokin IL – 10 zeigte sich auch bei unserer Untersuchung unabhängig vom gewählten Narkoseverfahren. 20 min nach EKZ war zwar ein deutlicher Anstieg der unstimulierten IL – 10 Konzentration nachweisbar, der jedoch aufgrund der großen Streubreite der einzelnen Messwerte keinen signifikanten Unterschied zu den Referenzwerten direkt nach Narkoseeinleitung zeigte.

Andere Autoren messen erstaunlich hohe Zytokinkonzentrationen ab Beginn der extrakorporalen Zirkulation in einem ähnlichen Versuchsaufbau (53, 71, 85). Jansen et al. untersuchten eine Population von 10 Patienten, die sich einer koronaren Revaskularisation unter Verwendung der Herzlungenmaschine unterzogen. Hier war nach Öffnen der

Aortenklammer ein Anstieg der TNF –  $\alpha$  Konzentration festzustellen, die nach 1 h ihr Maximum erreichte (58).

Eine mögliche Ursache für den fehlenden Nachweis einer erhöhten Konzentration von TNF –  $\alpha$  nach Ende der EKZ in Rahmen unserer Untersuchung könnte auf die Ausschüttung dieses proinflammatorischen Zytokins bereits kurz nach Beginn des kardiopulmonalen Bypasses, also in einer sehr frühen Phase der Entzündungsreaktion zurückzuführen sein (78). Aufgrund der kurzen Plasmahalbwertszeit des Tumornekrosefaktors, ist dieser an späteren Zeitpunkten nur noch in geringen Konzentrationen oder nicht mehr nachweisbar. Allerdings ist nicht auszuschließen, dass TNF –  $\alpha$  trotz fehlendem Konzentrationsanstieg im Blut weiterhin noch lokal freigesetzt wird und so seine Wirkung entfaltet.

Eine weitere Ursache für die im Gegensatz zu anderen Studien niedrigen TNF –  $\alpha$  Konzentrationen könnte in den vergleichsweise kürzeren Aortenklammer- und Bypasszeiten liegen (42, 61).

Die im Verlauf der unstimulierten Zytokinantwort auftretenden großen interindividuellen Unterschiede bei den TNF –  $\alpha$  Plasmaspiegeln können zum einen mit den geringen Konzentrationen dicht an der Detektionsgrenze des ELISA's, zum anderen mit einem möglichen genetischen Polymorphismus, der zu starken interindividuellen Schwankungen der ZytokinKonzentrationen führen kann, erklärt werden (80, 105, 125).

Ferner könnten neben den verschiedenen Zeitpunkten der Probenentnahme, die Auswahlkriterien der Patientenpopulation, die Spezifität und Sensivität der verwendeten Bestimmungsverfahren, sowie das unterschiedliche Management der extrakorporalen Zirkulation, zu den unterschiedlichen Ergebnissen geführt haben.

Auch die Interaktion der Zytokine untereinander könnte zumindest zum Teil eine weitere Erklärung für die kaum messbaren TNF –  $\alpha$  Konzentrationen darstellen (74). Die Produktion von IL – 10 wirkt über eine Aktivierung des JAK/STAT-Signaltransduktionswegs und damit einer Inhibition der NF $\kappa$ B-Synthese inhibitorisch auf die Neusynthese von TNF –  $\alpha$  (7, 94). Ebenfalls kann das in dieser Studie nicht bestimmte IL – 6 die Synthese von TNF –  $\alpha$  sowohl direkt hemmen, als auch natürliche Antagonisten des Zytokins induzieren (101, 112).

Die zum Zeitpunkt T2 um das 20-fache erhöhten IL – 10 Konzentrationen könnten aufgrund des inhibitorischen Effektes auf die TNF –  $\alpha$  Synthese die zu diesem Zeitpunkt unverändert niedrig gemessenen TNF –  $\alpha$  Werte erklären.

Demgegenüber sind die Ergebnisse bezüglich der Beeinflussung der pro- und antiinflammatorischen Zytokinantwort uneinheitlich. So konnten TNF –  $\alpha$  Erhöhungen im systemischen Kreislauf nach EKZ demonstriert werden (19, 33, 57, 76). Es gibt aber auch Studien, in denen kein Anstieg proinflammatorischer Zytokine nach EKZ nachweisbar war (17, 107). Kawamura et al. konnten an ACB-Patienten zeigen, dass 60 bis 180 min nach Klemmen der Aorta keine Konzentrationsveränderungen an IL – 6, IL – 8, Troponin – T und CK – MB zu verzeichnen waren (61).

Bei der kritischen Wertung der eigenen Studienergebnisse und der Beurteilung von Literaturdaten müssen deshalb die getroffenen Aussagen immer vor dem Hintergrund des jeweiligen Studiendesigns betrachtet werden.

### 5.2.2 Zytokinfreisetzung nach ex-vivo Stimulation mit LPS

Im vorhergehenden Abschnitt wurde das Hauptaugenmerk auf die nicht stimulierte Immunantwort nach aortokoronarer Revaskularisation gelegt. Jedoch geben weitere Ergebnisse Anlass zu der Erkenntnis, dass auch eine initiale pro- oder antiinflammatorische Antwort des Organismus für Organschäden und eine gestörte Immunantwort mitverantwortlich gemacht werden können (77, 107, 110).

Ein adäquat funktionsfähiges Immunsystem ist aufgrund der Inzidenz von mehr als 6 % nosokomialer Infektionen nach aortokoronarer Bypassoperation von immenser Bedeutung (40, 75). Eine durch die Begleitumstände der Operation eingeschränkte Reagibilität der mononukleären Zellen könnte bei einer zusätzlichen Infektion schlimmstenfalls eine Sepsis begünstigen, die zu einer höheren Letalität führt.

Deshalb wurde in der vorliegenden Studie die maximale Reaktionsfähigkeit des Immunsystems mittels einer Exposition mit dem Escherichia coli Endotoxin LPS ermittelt. In Anlehnung an die „multiple hit“ Theorie des MODS stellt diese Toxinstimulation ein zweites Stressereignis („second hit“) im Sinne einer bakteriellen Infektion dar, die für die Entwicklung eines MODS von zentraler Bedeutung ist (9). Die „second hit“ Theorie besagt, dass ein Organismus, der bereits mit einer Aktivierung des Immunsystems und einer erheblichen Zytokinfreisetzung auf ein Stressereignis bakterieller oder abakterieller Art reagiert hat, nicht in der Lage ist, auf eine zweite Noxe, die der ersten direkt folgt, adäquat zu reagieren.

In unserer Studie stellt das erste Stressereignis die Herzoperation unter Anwendung der EKZ dar, das zweite Stressereignis ist die in-vitro Stimulation mit dem bakteriellen Endotoxin LPS.

Nach einer jeweils maximalen ex-vivo Stimulation mit LPS (1 µg/ml) (87) ließ sich in der vorliegenden Untersuchung zu allen untersuchten Zeitpunkten und bei allen untersuchten Narkoseverfahren im peri- und postoperativen Verlauf einer aortokoronaren Revaskularisation im Vergleich zu einer spontanen Zytokinfreisetzung eine signifikante und in ihrem Ausmaß exponentiell gesteigerte Ausschüttung von TNF –  $\alpha$  und IL – 10 feststellen. Dabei fand sich nach LPS-Stimulation auch bei denjenigen Patienten eine Zytokinfreisetzung, bei denen unter unstimulierten Bedingungen ein Zytokinnachweis nicht möglich war. Bei der differenzierten Betrachtung der LPS stimulierten Vollblutansätze zeigte sich unabhängig von dem gewählten Narkoseverfahren 20 Minuten nach Ende der EKZ (T2) eine im Vergleich zum präoperativen Ausgangswert (T1) ausgeprägte Synthesehemmung der beiden Zytokine TNF –  $\alpha$  und IL – 10.

Diese signifikante Suppression der pro- und antiinflammatorischen Zytokine war auch noch 6 h nach Beendigung der EKZ (T3) in allen drei untersuchten Narkoseverfahren nachweisbar und zeigte nur einen mäßigen Wiederanstieg im Vergleich zum präoperativen Ausgangswert (T1). 24 h (T4) nach ischämischer Revaskularisation war in allen drei Gruppen ein Wiederanstieg der pro- und antiinflammatorischen Zytokinantwort erkennbar, wobei es unter einer Propofol oder Sevofluran basierten Allgemeinanästhesie zu einem rascheren Wiederanstieg von TNF –  $\alpha$  kam, während bei einer Narkoseführung mit Desfluran TNF –  $\alpha$  weiterhin signifikant supprimiert blieb. Bei dem durch LPS stimulierten antiinflammatorischen Zytokin IL – 10 war bei allen drei Narkoseverfahren eine gleichmäßige Erholung bis an die präoperativen Ausgangswerte zu beobachten. Ein methodisch limitierender Faktor der vorliegenden Ergebnisse ist möglicherweise, dass aus technischen Gründen alle Patienten während der Zeit der extrakorporalen Zirkulation mit Propofol anästhesiert wurden, jedoch blieben signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen bestehen. Bei strikterer Trennung der Narkoseverfahren wären die aufgeführten Beobachtungen möglicherweise noch deutlicher ausgefallen.

Die dargestellten Ergebnisse werden in wesentlichen Teilen gestützt durch frühere Untersuchungen an Patienten zur aortokoronaren Revaskularisation, in der ebenfalls nach Ende der EKZ die LPS stimulierte Zytokinfreisetzung supprimiert war. So konnten Kleinschmidt et al., Grundmann et al. und Ziegeler et al. in vorausgegangenen Untersuchungen den biphasischen Verlauf der Zytokinantwort in der peri- und postoperativen Phase sowie die deutlich herabgesetzte stimulierbare Zytokinantwort am ersten postoperativen Tag mit einer Tendenz zur Restitution nach 24 h auf das präoperative Ausgangsniveau zeigen (45, 67, 68, 131).

Vergleichbare Ergebnisse einer supprimierten Freisetzung proinflammatorischer Zytokine finden sich auch bei polytraumatisierten Patienten (62) und nach septischem Schock (38). Im Rahmen der Untersuchung von Borgermann et al. waren die TNF –  $\alpha$  Spiegel unter Narkoseführung mit Isofluran sogar am sechsten postoperativen Tag noch signifikant niedriger als die präoperativen Ausgangswerte (12).

Die signifikant verminderte Ausschüttung von TNF –  $\alpha$  und IL – 10 auf eine ex-vivo Toxinstimulation, wie sie in dieser Untersuchung 20 min nach EKZ gezeigt werden konnte, kann nicht allein durch die Hämodilution, durch das Füllvolumen der HLM oder durch großzügige intravenöse Volumensubstitution erklärt werden. Frühere Untersuchungen

zeigten, dass zwar die Zytokinproduktion nach Beendigung der EKZ signifikant abfällt, es jedoch trotz Hämodilution zu einem deutlichen Anstieg der Leukozyten im Blut kommt, so dass die Abnahme der leukozytären Zytokinsyntheseleistung durch die nachweisbare Leukozytose eher noch unterschätzt wird (68).

Ob und inwiefern die divergierenden Ergebnisse der dargestellten Zytokinfreisetzung nach aortokoronarer Revaskularisation unter Anwendung der EKZ von der Operationsdauer und der Aortenklemmzeit abhängig sind, lässt sich aufgrund der multifaktoriellen Beeinflussung der Synthese und Freisetzung der pro- und antiinflammatorischen Zytokine nur schwer nachweisen, da die Zeiten in den einzelnen Untersuchungen zum Teil erheblich voneinander abweichen. So beschreiben z.B. Azab et al. eine mittlere Operationsdauer von bis zu 290 min und eine Aortenklemmzeit von bis zu 88 min, während bei unserem Patientenkollektiv die durchschnittliche Operationsdauer mit 195 min und die Aortenklemmzeit mit 50 min deutlich kürzer waren. Carvalho et al. fanden bei Patienten, die sich einer aortokoronaren Bypass Operation unter Anwendung der extrakorporalen Zirkulation unterzogen, keine Korrelation zwischen der TNF –  $\alpha$  Konzentration und der Zeitdauer der myokardialen Ischämie beziehungsweise der EKZ (18). Diese Ergebnisse werden gestützt von Jansen et al., die ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen der Dauer der EKZ und der Höhe der TNF –  $\alpha$  Plasmaspiegel nachweisen konnten (49, 58). Demgegenüber fanden Hennein et al. die Dauer der Aortenklemmzeit als einzigen unabhängigen Prediktor der postoperativen TNF –  $\alpha$  Konzentration in ihrer Studie an 22 Patienten mit aortokoronarer Bypassoperation unter Anwendung der extrakorporalen Zirkulation (53).

Das Ausmaß der Kühlung während der extrakorporalen Zirkulation hat offensichtlich ebenfalls einen großen Einfluss auf die TNF –  $\alpha$  Konzentration. Bei Patienten, die in Hypothermie operiert wurden, ergaben sich für die TNF –  $\alpha$  Plasmaspiegel signifikant niedrigere Werte im Vergleich zu Patienten, die in Normothermie operiert wurden (85).

Die Hyporeagibilität mononukleärer Zellen, auf eine Endotoxinstimulation mit einer adäquaten Synthese von proinflammatorischen Zytokinen zu reagieren, deutet möglicherweise auf eine Einschränkung der körpereigenen Abwehrmechanismen hin.

Vor diesem Hintergrund konnten auch Ziegenfuss et al. an Patienten, die sich einer abdominalen Aortenaneurysmaoperation unterzogen, den nachteiligen Effekt einer frühzeitigen und lang anhaltenden Suppression des proinflammatorischen Zytokins TNF –  $\alpha$  darstellen (132). Obwohl das Studiendesign und das Patientenkollektiv von Ziegenfuss et al.

nicht generell mit der kardiochirurgischen Patientenpopulation in der hier dargestellten Studie vergleichbar waren, könnte die auch noch 24 h nach aortokoronarer Bypassoperation bestehende Suppression von TNF –  $\alpha$  unter einer Narkoseführung mit dem volatilen Anästhetikum Desfluran die Fähigkeit der Patienten, eine suffiziente Immunantwort zu generieren, im perioperativen Zeitraum negativ beeinflussen.

Erkenntnisse über die Auswirkung von volatilen Anästhetika auf die Veränderung der pro- und antiinflammatorischen Zytokinantwort wurden bereits in mehreren vorausgegangen Studien beschrieben. Das Phänomen der signifikanten Suppression der proinflammatorischen Zytokine IL – 1 $\beta$  und TNF –  $\alpha$  nach 2 h Exposition mit Sevofluran, Isofluran oder Enfluran zeigte auch die Arbeitsgruppe um Mitsuata in einem in vitro Versuch an PBMC, die durch Killerzell-sensitive Tumorzellen stimuliert wurden (88). Diese Ergebnisse konnten im Tierversuch an Endotoxin behandelten Sprague-Dawley Ratten, die nach Gabe von LPS und Desfluran im Vergleich zur Vehikelgruppe eine signifikante Suppression von IL – 1 $\beta$  und TNF –  $\alpha$  aufwiesen, bestätigt werden (10). Steurer et al. konnten an LPS stimulierten und nachfolgend mit Sevofluran konditionierten Alveolarmakrophagen ebenfalls eine Suppression von TNF –  $\alpha$  nachweisen (108).

Dass es zu einer Zunahme der ohnehin schon bestehenden Hyporeagibilität mononukleärer Zellen nach Toxinstimulation mit LPS durch das volatile Anästhetikum Sevofluran sowie durch eine milde Hypothermie kommt, konnte in früheren Arbeiten an Hand der Zytokine IL – 1 $\beta$ , TNF –  $\alpha$  und IL – 10 gezeigt werden (56). Aktuelle Untersuchungen mit identischem Versuchsaufbau zeigen ähnliche Ergebnisse für das Narkosegas Isofluran. Hierbei fand sich ebenfalls eine Suppression der proinflammatorischen Zytokine IL – 1 $\beta$  und TNF –  $\alpha$ , während die Freisetzung von IL – 10 und IL – 6 unbeeinflusst blieb (39).

Die Arbeitsgruppe um Azab et al. konnte an einem Patientenkollektiv, das sich einer aortokoronaren Bypassoperation unterzog zeigen, dass die TNF –  $\alpha$  Ausschüttung nach ex-vivo Stimulation mit LPS bei Patienten unmittelbar postoperativ sowie 24 Stunden nach Ende des Eingriffs unter einer Narkoseführung mit Midazolam signifikant höher als unter Narkoseführung mit Sevofluran war (37). Diese Befunde werden auch durch experimentelle Daten unserer Arbeitsgruppe gestützt (72), in denen wir die frühere Erholung der TNF –  $\alpha$  Synthese nach Narkoseführung mit Midazolam und ex-vivo Stimulation mit LPS darstellen konnten. In unserem Studiendesign war keine Narkoseführung mit Midazolam vorgesehen, da bei Anwendung der heutigen Fast-Track-Konzepte eine Benzodiazepin-basierte Narkose

als unangebracht gilt. Insofern muss es offen bleiben, ob sich auch in unserem Patientenkollektiv die TNF –  $\alpha$  Synthese bei Anwendung von Midazolam ebenfalls früher erholt hätte.

Die komplexe Interferenz verschiedener intravenöser Hypnotika mit dem menschlichen Immunsystem ist Gegenstand vieler Untersuchungen. Unsere Arbeitsgruppe konnte beim Vergleich der konzentrationsabhängigen Effekte von Thiopental, Ketamin, Etomidat, Fentanyl, Midazolam und Propofol auf die unstimulierte und mit LPS stimulierte Immunantwort lediglich bei der Gabe von geringen Dosen Propofol einen signifikanten Anstieg der TNF –  $\alpha$  Konzentration um 172 % im Vergleich zum Ausgangswert zeigen, während Midazolam und Fentanyl weder die spontane noch die LPS stimulierte Zytokinfreisetzung im humanen Vollblutansatz maßgeblich beeinflussten (72). Brand et al. konnten in einer weiteren Untersuchung an einem Kollektiv von 30 Patienten, die sich einem elektiv orthopädischen Eingriff unter Allgemeinanästhesie mit Propofol und Fentanyl unterzogen, an LPS stimulierten Vollblutproben eine Erniedrigung der IL – 10 Konzentration bei gleichzeitiger Erhöhung der TNF –  $\alpha$  und IL – 1 $\beta$  Konzentration zeigen. Weiter fand sich eine Erniedrigung der natürlichen Killerzellen, eine Veränderung des Quotienten der T-Lymphozyten, zugunsten der CD4+ Zellen, sowie eine B-Lymphozytose (13). Eine vergleichbare Beeinflussung der postoperativen Immunreaktion konnten Schneemilch et al. und Rossano et al. in vivo nachweisen (52, 98, 102). Auch konnte bei kritisch kranken Intensivpatienten während einer Sedierung mit Propofol und bis zu 48 Stunden später ein signifikanter Anstieg der proinflammatorischen Zytokine TNF –  $\alpha$  und IL – 1 $\beta$  gezeigt werden, während die Produktion von IL – 2, IL – 8 gehemmt wurde (31, 34).

Corcoran et al. verabreichten einer Population von 27 Patienten, die sich einer aortokoronaren Bypassoperation mit Isofluran zur Narkoseaufrechterhaltung unterzogen, 5 min vor Aortenklammung bis 4 h danach, entweder Propofol als Target Controlled Infusion (TCI), oder eine 0,9 % NaCl-Lösung. Über einen Zeitraum von 20 min bis 36 h nach Reperfusion erfolgte mit aus dem Koronarsinus entnommenem Vollblut die Bestimmung von IL – 6, IL – 8 und IL – 10. Lediglich 4 h nach erfolgter Reperfusion zeigte sich bei IL – 6 ein signifikanter Anstieg in der NaCl-Gruppe im Vergleich zur Propofolgruppe. Weiter konnte eine Abnahme von Malondialdehydat als Marker des oxidativen Stresses bis 60 min nach Reperfusion gezeigt werden. Ein Unterschied der Leukozytenfunktion war nicht festzustellen (24, 25).

Das Hypnotikum Propofol fungiert aufgrund seiner chemischen Struktur als Radikalfänger und weist membranstabilisierende Effekte auf, die für seine (kardio-) protektive



Eigenschaften verantwortlich sein könnten (26, 60, 100). Möglicherweise kommt es durch die Gabe von Propofol zu einer Störung der ansonsten streng gekoppelten Interaktion von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen und somit zu einem Ungleichgewicht zugunsten der antiinflammatorischen Mediatoren (55, 72, 111). Andererseits wurden immunmodulatorische Effekte im Sinne einer gesteigerten Stimulierbarkeit mononukleärer Zellen in Bezug auf die TNF –  $\alpha$  Plasmalevel nach Narkoseführung mit Propofol beschrieben (50, 132), die mit einem positiven Patientenoutcome nach kardiochirurgischen Eingriffen einhergehen könnten.

## 6 Schlussfolgerungen

Die Beeinflussung des Immunsystems durch die Verabreichung der Anästhetika Propofol, Desfluran und Sevofluran war schon Gegenstand vieler Untersuchungen. Jedoch stellt sich die Datenlage hinsichtlich der Auswirkungen auf die Synthese der einzelnen pro- und antiinflammatorischen Zytokine nicht eindeutig dar und gibt immer wieder Anlass zur Diskussion.

Ebenfalls sind die unphysiologischen Auswirkungen der extrakorporalen Zirkulationen mit der Auslösung einer systemischen inflammatorischen Reaktion, die gegebenenfalls zu einer Verzögerung des Genesungsprozesses führen kann und im Extremfall im Vollbild des multiplen Organversagens endet, aus einer Vielzahl an Studien gut rekonstruierbar.

Welchen Einfluss die drei gewählten Narkoseverfahren auf die Zytokinfreisetzung nach Operationen mit extrakorporaler Zirkulation haben, war Gegenstand dieser Studie.

Im Hinblick auf die dargestellten Ergebnisse ist es wichtig, auch unter diesen „unphysiologischen“ Bedingungen, nicht den Absolutwert eines einzelnen Zytokins an nur einem gewählten Zeitpunkt zu betrachten. Vielmehr ist der Verlauf der Zytokine über den gesamten Untersuchungszeitraum sowie die Balance der einzelnen pro- und antiinflammatorisch wirkenden Zytokine, von entscheidender Bedeutung.

Zusammenfassend konnten wir anhand unseres Studiendesign zeigen, dass es bei der LPS stimulierten Immunantwort, 24 h nach aortokoronarer Revaskularisation und der Anwendung einer Propofol oder Sevofluran basierten Allgemeinanästhesie zu einem früheren Wiederherstellung des proinflammatorischen Zytokinmusters kommt. Während bei einer Narkoseführung mit dem volatilen Anästhetikum Desfluran die proinflammatorischen Zytokine weiterhin supprimiert waren. Im Gegensatz dazu zeigt sich bei der antiinflammatorischen Remodulation der Zytokinantwort eine gleichmäßige Erholung unabhängig vom gewählten Anästhetikum.

Ob und in welchem Ausmaß das Erreichen einer „immunologischen Homöostase“ durch Propofol und Sevofluran, sowie die weiterhin bestehende Immunsuppression durch Desfluran, einen positiven oder negativen Einfluss auf den Genesungsprozess, die Krankenhausverweildauer oder gar die Mortalität hat, wurde von uns in der vorliegenden

Arbeit aufgrund der zu geringen Patientenzahl nicht untersucht und bedarf weiterführender Untersuchungen.

Ebenfalls offen bleiben muss die Frage, ob im klinischen Alltag eines der untersuchten Narkosemedikamente dem anderen bei aortokoronaren Bypassoperationen vorzuziehen ist. Weitere Untersuchungen werden notwendig sein, um die klinisch immunologische Bedeutung der untersuchten Substanzen näher zu beleuchten.

## 7 Literaturverzeichnis

1. Abel RM, Buckley MJ, Austen WG, Barnett GO, Beck CH, Fischer JE (1976) Acute postoperative renal failure in cardiac surgical patients. *J.Surg.Res.* 20:341-348
2. Anker SD, von HS (2004) Inflammatory mediators in chronic heart failure: an overview. *Heart* 90:464-470
3. Ashraf S, Butler J, Tian Y, Cowan D, Lintin S, Saunders NR, Watterson KG, Martin PG (1998) Inflammatory mediators in adults undergoing cardiopulmonary bypass: comparison of centrifugal and roller pumps. *Ann.Thorac.Surg.* 65:480-484
4. Bauer M, Rensing H, Ziegenfuss T (1998) [Anesthesia and perioperative immune function]. *Anaesthesist* 47:538-556
5. Belhomme D, Peynet J, Louzy M, Launay JM, Kitakaze M, Menasche P (1999) Evidence for preconditioning by isoflurane in coronary artery bypass graft surgery. *Circulation* 100:II340-II344
6. Bogdan C, Vodovotz Y, Nathan C (1991) Macrophage deactivation by interleukin 10. *J.Exp.Med.* 174:1549-1555
7. Bolger AP, Sharma R, von HS, Doehner W, Oliver B, Rauchhaus M, Coats AJ, Adcock IM, Anker SD (2002) Effect of interleukin-10 on the production of tumor necrosis factor-alpha by peripheral blood mononuclear cells from patients with chronic heart failure. *Am.J.Cardiol.* 90:384-389
8. Bone RC (1996) Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. *Crit Care Med.* 24:1125-1128
9. Bone RC (1994) Sepsis and its complications: the clinical problem. *Crit Care Med.* 22:S8-11
10. Boost KA, Hofstetter C, Flondor M, Betz C, Homann M, Pfeilschifter J, Muehl H, Zwissler B (2006) Desflurane differentially affects the release of proinflammatory cytokines in plasma and bronchoalveolar fluid of endotoxemic rats. *Int.J.Mol.Med.* 17:1139-1144
11. Borgermann J, Flohe S, Scheubel RJ, Kuss O, Simm A, Schade FU, Friedrich I (2007) Regulation of cytokine synthesis in cardiac surgery: Role of extracorporeal circuit and humoral mediators in vivo and in vitro. *Inflamm.Res.* 56:126-132
12. Borgermann J, Friedrich I, Flohe S, Spillner J, Majetschak M, Kuss O, Sablotzki A, Feldt T, Reidemeister JC, Schade FU (2002) Tumor necrosis factor-alpha production in whole blood after cardiopulmonary bypass: downregulation caused by circulating cytokine-inhibitory activities. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 124:608-617

13. 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* 20:213-217
14. Brasil LA, Gomes WJ, Salomao R, Buffolo E (1998) Inflammatory response after myocardial revascularization with or without cardiopulmonary bypass. *Ann.Thorac.Surg.* 66:56-59
15. Brix-Christensen V (2001) The systemic inflammatory response after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass in children. *Acta Anaesthesiol.Scand.* 45:671-679
16. Bryant D, Becker L, Richardson J, Shelton J, Franco F, Peshock R, Thompson M, Giroir B (1998) Cardiac failure in transgenic mice with myocardial expression of tumor necrosis factor-alpha. *Circulation* 97:1375-1381
17. Butler J, Parker D, Pillai R, Westaby S, Shale DJ, Rocker GM (1993) Effect of cardiopulmonary bypass on systemic release of neutrophil elastase and tumor necrosis factor. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 105:25-30
18. Butler J, Rocker GM, Westaby S (1993) Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann.Thorac.Surg.* 55:552-559
19. Carvalho MV, Maluf MA, Catani R, La Rotta CA, Gomes WJ, Salomao R, da Silva CM, Carvalho AC, Branco JN, Buffolo E (2001) Cytokines and pediatric open heart surgery with cardiopulmonary bypass. *Cardiol.Young.* 11:36-43
20. Casey LC (1993) Role of cytokines in the pathogenesis of cardiopulmonary-induced multisystem organ failure. *Ann.Thorac.Surg.* 56:S92-S96
21. Chenoweth DE, Cooper SW, Hugli TE, Stewart RW, Blackstone EH, Kirklin JW (1981) Complement activation during cardiopulmonary bypass: evidence for generation of C3a and C5a anaphylatoxins. *N.Engl.J.Med.* 304:497-503
22. Christenson JT, Schmuziger M, Maurice J, Simonet F, Velebit V (1994) Gastrointestinal complications after coronary artery bypass grafting. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 108:899-906
23. Cope DK, Impastato WK, Cohen MV, Downey JM (1997) Volatile anesthetics protect the ischemic rabbit myocardium from infarction. *Anesthesiology* 86:699-709
24. Corcoran TB, Engel A, Sakamoto H, O'Callaghan-Enright S, O'Donnell A, Heffron JA, Shorten G (2004) The effects of propofol on lipid peroxidation and inflammatory response in elective coronary artery bypass grafting. *J.Cardiothorac.Vasc.Anesth.* 18:592-604
25. Corcoran TB, Engel A, Sakamoto H, O'Shea A, O'Callaghan-Enright S, Shorten GD (2006) The effects of propofol on neutrophil function, lipid peroxidation and inflammatory response during elective coronary artery bypass grafting in patients with impaired ventricular function. *Br.J.Anaesth.* 97:825-831

26. Corcoran TB, O'Shea A, Engel A, Shorten GD (2006) The influence of propofol on P-selectin expression and nitric oxide production in re-oxygenated human umbilical vein endothelial cells. *Acta Anaesthesiol.Scand.* 50:348-354
27. Cremer J, Martin M, Redl H, Bahrami S, Abraham C, Graeter T, Haverich A, Schlag G, Borst HG (1996) Systemic inflammatory response syndrome after cardiac operations. *Ann.Thorac.Surg.* 61:1714-1720
28. De Hert SG, Turani F, Mathur S, Stowe DF (2005) Cardioprotection with volatile anesthetics: mechanisms and clinical implications. *Anesth.Analg.* 100:1584-1593
29. de Waal MR, Abrams J, Bennett B, Figdor CG, de Vries JE (1991) Interleukin 10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J.Exp.Med.* 174:1209-1220
30. De HS, Vlasselaers D, Barbe R, Ory JP, Dekegel D, Donnadonna R, Demeere JL, Mulier J, Wouters P (2009) A comparison of volatile and non volatile agents for cardioprotection during on-pump coronary surgery. *Anaesthesia* 64:953-960
31. Delogu G, Antonucci A, Moretti S, Marandola M, Tellan G, Signore M, Famularo G (2004) Oxidative stress and mitochondrial glutathione in human lymphocytes exposed to clinically relevant anesthetic drug concentrations. *J.Clin.Anesth.* 16:189-194
32. Deng MC, Dasch B, Erren M, Mollhoff T, Scheld HH (1996) Impact of left ventricular dysfunction on cytokines, hemodynamics, and outcome in bypass grafting. *Ann.Thorac.Surg.* 62:184-190
33. Deng MC, Wiedner M, Erren M, Mollhoff T, Assmann G, Scheld HH (1995) Arterial and venous cytokine response to cardiopulmonary bypass for low risk CABG and relation to hemodynamics. *Eur.J.Cardiothorac.Surg.* 9:22-29
34. Devlin EG, Clarke RS, Mirakhur RK, McNeill TA (1994) Effect of four i.v. induction agents on T-lymphocyte proliferations to PHA in vitro. *Br.J.Anaesth.* 73:315-317
35. Echtenacher B, Falk W, Mannel DN, Krammer PH (1990) Requirement of endogenous tumor necrosis factor/cachectin for recovery from experimental peritonitis. *J.Immunol.* 145:3762-3766
36. El A, Sr., Rosseel PM, De Lange JJ, Groeneveld AB, Van SR, Van Wijk EM, Scheffer GJ (2003) Effect of sevoflurane on the ex vivo secretion of TNF-alpha during and after coronary artery bypass surgery. *Eur.J.Anaesthesiol.* 20:380-384
37. El A, Sr., Rosseel PM, De Lange JJ, Van Wijk EM, Van SR, 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

38. Ertel W, Kremer JP, Kenney J, Steckholzer U, Jarrar D, Trentz O, Schildberg FW (1995) Downregulation of proinflammatory cytokine release in whole blood from septic patients. *Blood* 85:1341-1347
39. Flondor M, Hofstetter C, Boost KA, Betz C, Homann M, Zwissler B (2008) Isoflurane inhalation after induction of endotoxemia in rats attenuates the systemic cytokine response. *Eur.Surg.Res.* 40:1-6
40. Ford EG, Baisden CE, Matteson ML, Picone AL (1991) Sepsis after coronary bypass grafting: evidence for loss of the gut mucosal barrier. *Ann.Thorac.Surg.* 52:514-517
41. Fransen E, Maessen J, Dentener M, Senden N, Geskes G, Buurman W (1998) Systemic inflammation present in patients undergoing CABG without extracorporeal circulation. *Chest* 113:1290-1295
42. Gasz B, Lenard L, Racz B, Benko L, Borsiczky B, Cserepes B, Gal J, Jancso G, Lantos J, Ghosh S, Szabados S, Papp L, Alotti N, Roth E (2006) Effect of cardiopulmonary bypass on cytokine network and myocardial cytokine production. *Clin.Cardiol.* 29:311-315
43. Giomarelli P, Scolletta S, Borrelli E, Biagioli B (2003) Myocardial and lung injury after cardiopulmonary bypass: role of interleukin (IL)-10. *Ann.Thorac.Surg.* 76:117-123
44. Girndt M, Kohler H, Schiedhelm-Weick E, Schlaak JF, Meyer zum Buschenfelde KH, Fleischer B (1995) Production of interleukin-6, tumor necrosis factor alpha and interleukin-10 in vitro correlates with the clinical immune defect in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int.* 47:559-565
45. Grundmann U, Rensing H, Adams HA, Falk S, Wendler O, Ebinger N, Bauer M (2000) Endotoxin desensitization of human mononuclear cells after cardiopulmonary bypass: role of humoral factors. *Anesthesiology* 93:359-369
46. Grutz G (2005) New insights into the molecular mechanism of interleukin-10-mediated immunosuppression. *J.Leukoc.Biol.* 77:3-15
47. Hannan EL, Kilburn H, Jr., Racz M, Shields E, Chassin MR (1994) Improving the outcomes of coronary artery bypass surgery in New York State. *JAMA* 271:761-766
48. Hanouz JL, Zhu L, Lemoine S, Durand C, Lepage O, Massetti M, Khayat A, Plaud B, Gerard JL (2007) Reactive oxygen species mediate sevoflurane- and desflurane-induced preconditioning in isolated human right atria in vitro. *Anesth.Analg.* 105:1534-9, table
49. Hattler BG, Zeevi A, Oddis CV, Finkel MS (1995) Cytokine induction during cardiac surgery: analysis of TNF-alpha expression pre- and postcardiopulmonary bypass. *J.Card Surg.* 10:418-422

50. Heagy W, Nieman K, Hansen C, Cohen M, Danielson D, West MA (2003) Lower levels of whole blood LPS-stimulated cytokine release are associated with poorer clinical outcomes in surgical ICU patients. *Surg.Infect.(Larchmt.)* 4:171-180
51. Hehlgans T, Pfeffer K (2005) The intriguing biology of the tumour necrosis factor/tumour necrosis factor receptor superfamily: players, rules and the games. *Immunology* 115:1-20
52. Helmy SA, Al-Attayah RJ (2001) The immunomodulatory effects of prolonged intravenous infusion of propofol versus midazolam in critically ill surgical patients. *Anaesthesia* 56:4-8
53. Hennein HA, Ebba H, Rodriguez JL, Merrick SH, Keith FM, Bronstein MH, Leung JM, Mangano DT, Greenfield LJ, Rankin JS (1994) Relationship of the proinflammatory cytokines to myocardial ischemia and dysfunction after uncomplicated coronary revascularization. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 108:626-635
54. Hess PJ, Jr. (2005) Systemic inflammatory response to coronary artery bypass graft surgery. *Am.J.Health Syst.Pharm.* 62:S6-S9
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* 50:494-499
56. Hofstetter C, Boost KA, Flondor M, Basagan-Mogol E, Betz C, Homann M, Muhl H, Pfeilschifter J, Zwissler B (2007) Anti-inflammatory effects of sevoflurane and mild hypothermia in endotoxemic rats. *Acta Anaesthesiol.Scand.* 51:893-899
57. Jansen NJ, van OW, Gu YJ, van Vliet MH, Eijnsman L, Wildevuur CR (1992) Endotoxin release and tumor necrosis factor formation during cardiopulmonary bypass. *Ann.Thorac.Surg.* 54:744-747
58. Jansen NJ, van OW, van den BL, Oudemans-van Straaten HM, Stoutenbeek CP, Joen MC, Roozendaal KJ, Eysman L, Wildevuur CR (1991) Inhibition by dexamethasone of the reperfusion phenomena in cardiopulmonary bypass. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 102:515-525
59. Jansen PG, te VH, Wildevuur WR, Huybregts MA, Bulder ER, van der Spoel HI, Sturk A, Eijnsman L, Wildevuur CR (1996) Cardiopulmonary bypass with modified fluid gelatin and heparin-coated circuits. *Br.J.Anaesth.* 76:13-19
60. Kato R, Foex P (2002) Myocardial protection by anesthetic agents against ischemia-reperfusion injury: an update for anesthesiologists. *Can.J.Anaesth.* 49:777-791
61. Kawamura T, Kadosaki M, Nara N, Kaise A, Suzuki H, Endo S, Wei J, Inada K (2006) Effects of sevoflurane on cytokine balance in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery. *J.Cardiothorac.Vasc.Anesth.* 20:503-508
62. Keel M, Schreggenberger N, Steckholzer U, Ungethum U, Kenney J, Trentz O, Ertel W (1996) Endotoxin tolerance after severe injury and its regulatory mechanisms. *J.Trauma* 41:430-437



63. Kelbel I, Weiss M (2001) Anaesthetics and immune function. *Curr.Opin.Anaesthesiol.* 14:685-691
64. Kharazmi A, Andersen LW, Baek L, Valerius NH, Laub M, Rasmussen JP (1989) Endotoxemia and enhanced generation of oxygen radicals by neutrophils from patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 98:381-385
65. Kirklin JK (1991) Prospects for understanding and eliminating the deleterious effects of cardiopulmonary bypass. *Ann.Thorac.Surg.* 51:529-531
66. Kirklin JK, Westaby S, Blackstone EH, Kirklin JW, Chenoweth DE, Pacifico AD (1983) Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 86:845-857
67. Kleinschmidt S, Bauer M, Wanner G, Bussmann D, Ziegenfuss T, Menger MD, Larsen R (1998) [The effect of gamma-hydroxybutyrate (GHB) on proinflammatory cytokine gene expression in coronary surgical procedures]. *Anaesthesist* 47:651-662
68. Kleinschmidt S, Wanner GA, Bussmann D, Kremer JP, Ziegenfuss T, Menger MD, Bauer M (1998) Proinflammatory cytokine gene expression in whole blood from patients undergoing coronary artery bypass surgery and its modulation by pentoxifylline. *Shock* 9:12-20
69. Kotani N, Hashimoto H, Sessler DI, Kikuchi A, Suzuki A, Takahashi S, Muraoka M, Matsuki A (1998) Intraoperative modulation of alveolar macrophage function during isoflurane and propofol anesthesia. *Anesthesiology* 89:1125-1132
70. Kotani N, Lin CY, Wang JS, Gurley JM, Tolin FP, Michelassi F, Lin HS, Sandberg WS, Roizen MF (1995) Loss of alveolar macrophages during anesthesia and operation in humans. *Anesth.Analg.* 81:1255-1262
71. Lahat N, Zlotnick AY, Shtiller R, Bar I, Merin G (1992) Serum levels of IL-1, IL-6 and tumour necrosis factors in patients undergoing coronary artery bypass grafts or cholecystectomy. *Clin.Exp.Immunol.* 89:255-260
72. 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* 89:1218-1227
73. Levin M, Quint PA, Goldstein B, Barton P, Bradley JS, Shemie SD, Yeh T, Kim SS, Cafaro DP, Scannon PJ, Giroir BP (2000) Recombinant bactericidal/permeability-increasing protein (rBPI21) as adjunctive treatment for children with severe meningococcal sepsis: a randomised trial. rBPI21 Meningococcal Sepsis Study Group. *Lancet* 356:961-967
74. Lin E, Calvano SE, Lowry SF (2000) Inflammatory cytokines and cell response in surgery. *Surgery* 127:117-126
75. Livingston DH, Deitch EA (1995) Multiple organ failure: a common problem in surgical intensive care unit patients. *Ann.Med.* 27:13-20

76. Marti F, Munoz J, Peiro M, Bertran E, Ferran C, Octavio C, Garcia J, Rueda F (1995) Higher cytotoxic activity and increased levels of IL-1 beta, IL-6, and TNF-alpha in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *Am.J.Hematol.* 49:237-239
77. Martinez-Pellus AE, Merino P, Bru M, Conejero R, Seller G, Munoz C, Fuentes T, Gonzalez G, Alvarez B (1993) Can selective digestive decontamination avoid the endotoxemia and cytokine activation promoted by cardiopulmonary bypass? *Crit Care Med.* 21:1684-1691
78. 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.Anaesth.* 75:724-733
79. McBride WT, McBride SJ (1998) The balance of pro- and anti-inflammatory cytokines in cardiac surgery. *Curr.Opin.Anaesthesiol.* 11:15-22
80. McGuire W, Hill AV, Allsopp CE, Greenwood BM, Kwiatkowski D (1994) Variation in the TNF-alpha promoter region associated with susceptibility to cerebral malaria. *Nature* 371:508-510
81. Meco M, Cirri S, Gallazzi C, Magnani G, Cosseta D (2007) Desflurane preconditioning in coronary artery bypass graft surgery: a double-blinded, randomised and placebo-controlled study. *Eur.J.Cardiothorac.Surg.* 32:319-325
82. Meldrum DR (1998) Tumor necrosis factor in the heart. *Am.J.Physiol* 274:R577-R595
83. Meldrum DR, Partrick DA, Cleveland JC, Jr., Shenkar R, Meldrum KK, Raiesdana A, Ayala A, Brown JW, Harken AH (2003) On-pump coronary artery bypass surgery activates human myocardial NF-kappaB and increases TNF-alpha in the heart. *J.Surg.Res.* 112:175-179
84. Menasche P (1995) The inflammatory response to cardiopulmonary bypass and its impact on postoperative myocardial function. *Curr.Opin.Cardiol.* 10:597-604
85. Menasche P, Haydar S, Peynet J, Du BC, Merval R, Bloch G, Piwnica A, Tedgui A (1994) A potential mechanism of vasodilation after warm heart surgery. The temperature-dependent release of cytokines. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 107:293-299
86. Millar AB, Armstrong L, van der LJ, Moat N, Ekroth R, Westwick J, Scallan M, Lincoln C (1993) Cytokine production and hemofiltration in children undergoing cardiopulmonary bypass. *Ann.Thorac.Surg.* 56:1499-1502
87. Mitov IG, Kropec A, Benzing A, Just H, Garotta G, Galanos C, Freudenberg M (1997) Differential cytokine production in stimulated blood cultures from intensive care patients with bacterial infections. *Infection* 25:206-212
88. Mitsuhashi H, Shimizu R, Yokoyama MM (1995) Suppressive effects of volatile anesthetics on cytokine release in human peripheral blood mononuclear cells. *Int.J.Immunopharmacol.* 17:529-534

89. Myles P, Buckland M, Cannon G, Bujor M, Anderson J, Salamonsen B, Davis B (1996) The association among gastric mucosal pH, endotoxemia, and low systemic vascular resistance after cardiopulmonary bypass. *J.Cardiothorac.Vasc.Anesth.* 10:195-200
90. Nathan N, Denizot Y, Cornu E, Jauberteau MO, Chauvreau C, Feiss P (1997) Cytokine and lipid mediator blood concentrations after coronary artery surgery. *Anesth.Analg.* 85:1240-1246
91. Pintar T, Collard CD (2003) The systemic inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Anesthesiol.Clin.North America.* 21:453-464
92. Piriou V, Chiari P, Gateau-Roesch O, Argaud L, Muntean D, Salles D, Loufouat J, Gueugniaud PY, Lehot JJ, Ovize M (2004) Desflurane-induced preconditioning alters calcium-induced mitochondrial permeability transition. *Anesthesiology* 100:581-588
93. Piriou V, Mantz J, Goldfarb G, Kitakaze M, Chiari P, Paquin S, Cornu C, Lecharny JB, Aussage P, Vicaut E, Pons A, Lehot JJ (2007) Sevoflurane preconditioning at 1 MAC only provides limited protection in patients undergoing coronary artery bypass surgery: a randomized bi-centre trial. *Br.J.Anaesth.* 99:624-631
94. Qing M, Nimmegern A, Heinrich PC, Schumacher K, Vazquez-Jimenez JF, Hess J, von BG, Seghaye MC (2003) Intrahepatic synthesis of tumor necrosis factor-alpha related to cardiac surgery is inhibited by interleukin-10 via the Janus kinase (Jak)/signal transducers and activator of transcription (STAT) pathway. *Crit Care Med.* 31:2769-2775
95. Raja SG, Dreyfus GD (2005) Modulation of systemic inflammatory response after cardiac surgery. *Asian Cardiovasc.Thorac.Ann.* 13:382-395
96. Rem J, Brandt MR, Kehlet H (1980) Prevention of postoperative lymphopenia and granulocytosis by epidural analgesia. *Lancet* 1:283-284
97. Roach GW, Kanchuger M, Mangano CM, Newman M, Nussmeier N, Wolman R, Aggarwal A, Marschall K, Graham SH, Ley C (1996) Adverse cerebral outcomes after coronary bypass surgery. Multicenter Study of Perioperative Ischemia Research Group and the Ischemia Research and Education Foundation Investigators. *N.Engl.J.Med.* 335:1857-1863
98. Rossano F, Tufano R, Cipollaro de L'E, Servillo G, Baroni A, Tufano MA (1992) Anesthetic agents induce human mononuclear leucocytes to release cytokines. *Immunopharmacol.Immunotoxicol.* 14:439-450
99. Sawa Y, Shimazaki Y, Kadoba K, Masai T, Fukuda H, Ohata T, Taniguchi K, Matsuda H (1996) Attenuation of cardiopulmonary bypass-derived inflammatory reactions reduces myocardial reperfusion injury in cardiac operations. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 111:29-35
100. Sayin MM, Ozatamer O, Tasoz R, Kilinc K, Unal N (2002) Propofol attenuates myocardial lipid peroxidation during coronary artery bypass grafting surgery. *Br.J.Anaesth.* 89:242-246

101. Schindler R, Mancilla J, Endres S, Ghorbani R, Clark SC, Dinarello CA (1990) Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells: IL-6 suppresses IL-1 and TNF. *Blood* 75:40-47
102. Schneemilch CE, Bank U (2001) [Release of pro- and anti-inflammatory cytokines during different anesthesia procedures]. *Anaesthesiol.Reanim.* 26:4-10
103. Schneemilch CE, Hachenberg T, Ansorge S, Ittenson A, Bank U (2005) Effects of different anaesthetic agents on immune cell function in vitro. *Eur.J.Anaesthesiol.* 22:616-623
104. Schneemilch CE, Schilling T, Bank U (2004) Effects of general anaesthesia on inflammation. *Best.Pract.Res.Clin.Anaesthesiol.* 18:493-507
105. Schroeder S, Borger N, Wrigge H, Welz A, Putensen C, Hoeft A, Stuber F (2003) A tumor necrosis factor gene polymorphism influences the inflammatory response after cardiac operation. *Ann.Thorac.Surg.* 75:534-537
106. Steinberg BM, Grossi EA, Schwartz DS, McLoughlin DE, Aguinaga M, Bizakis C, Greenwald J, Flisser A, Spencer FC, Galloway AC, . (1995) Heparin bonding of bypass circuits reduces cytokine release during cardiopulmonary bypass. *Ann.Thorac.Surg.* 60:525-529
107. Steinberg JB, Kapelanski DP, Olson JD, Weiler JM (1993) Cytokine and complement levels in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 106:1008-1016
108. Steurer M, Schlapfer M, Steurer M, Z'graggen BR, Booy C, Reyes L, Spahn DR, Beck-Schimmer B (2009) The volatile anaesthetic sevoflurane attenuates lipopolysaccharide-induced injury in alveolar macrophages. *Clin.Exp.Immunol.* 155:224-230
109. Stumpf C, Lehner C, Yilmaz A, Daniel WG, Garlachs CD (2003) Decrease of serum levels of the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 in patients with advanced chronic heart failure. *Clin.Sci.(Lond)* 105:45-50
110. Tabardel Y, Duchateau J, Schmartz D, Marecaux G, Shahla M, Barvais L, LeClerc JL, Vincent JL (1996) Corticosteroids increase blood interleukin-10 levels during cardiopulmonary bypass in men. *Surgery* 119:76-80
111. Taniguchi T, Yamamoto K (2005) Anti-inflammatory effects of intravenous anesthetics on endotoxemia. *Mini.Rev.Med.Chem.* 5:241-245
112. Tilg H, Dinarello CA, Mier JW (1997) IL-6 and APPs: anti-inflammatory and immunosuppressive mediators. *Immunol.Today* 18:428-432
113. Tracey KJ, Fong Y, Hesse DG, Manogue KR, Lee AT, Kuo GC, Lowry SF, Cerami A (1987) Anti-cachectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia. *Nature* 330:662-664
114. Uteley JR (1990) Pathophysiology of cardiopulmonary bypass: current issues. *J.Card Surg.* 5:177-189

115. Wan S, DeSmet JM, Barvais L, Goldstein M, Vincent JL, LeClerc JL (1996) Myocardium is a major source of proinflammatory cytokines in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 112:806-811
116. Wan S, LeClerc JL, Schmartz D, Barvais L, Huynh CH, Deviere J, DeSmet JM, Vincent JL (1997) Hepatic release of interleukin-10 during cardiopulmonary bypass in steroid-pretreated patients. *Am.Heart J.* 133:335-339
117. Wan S, LeClerc JL, Vincent JL (1997) Inflammatory response to cardiopulmonary bypass: mechanisms involved and possible therapeutic strategies. *Chest* 112:676-692
118. Wan S, LeClerc JL, Vincent JL (1997) Cytokine responses to cardiopulmonary bypass: lessons learned from cardiac transplantation. *Ann.Thorac.Surg.* 63:269-276
119. Weerwind PW, Maessen JG, van Tits LJ, Stad RK, Fransen EJ, de Jong DS, Penn OC (1995) Influence of Duraflo II heparin-treated extracorporeal circuits on the systemic inflammatory response in patients having coronary bypass. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 110:1633-1641
120. Werdan K (1997) [Cytokines and heart diseases. Attempt at an update]. *Med.Klin.(Munich)* 92:432-438
121. Westaby S (1987) Organ dysfunction after cardiopulmonary bypass. A systemic inflammatory reaction initiated by the extracorporeal circuit. *Intensive Care Med.* 13:89-95
122. Wilhelm W, Grundmann U, Rensing H, Werth M, Langemeyer J, Stracke C, Dhingra D, Bauer M (2002) Monocyte deactivation in severe human sepsis or following cardiopulmonary bypass. *Shock* 17:354-360
123. Wilson BM, Severn A, Rapson NT, Chana J, Hopkins P (1991) A convenient human whole blood culture system for studying the regulation of tumour necrosis factor release by bacterial lipopolysaccharide. *J.Immunol.Methods* 139:233-240
124. Yamada Y, Endo S, Inada K (1996) Plasma cytokine levels in patients with severe burn injury--with reference to the relationship between infection and prognosis. *Burns* 22:587-593
125. Yoon SZ, Jang IJ, Choi YJ, Kang MH, Lim HJ, Lim YJ, Lee HW, Chang SH, Yoon SM (2009) Association Between Tumor Necrosis Factor alpha 308G/A Polymorphism and Increased Proinflammatory Cytokine Release After Cardiac Surgery With Cardiopulmonary Bypass in the Korean Population. *J.Cardiothorac.Vasc.Anesth.*:-
126. Zabel P, Linnemann K, Schlaak M (1993) [Circadian rhythm in cytokines]. *Immun.Infekt.* 21 Suppl 1:38-40
127. Zaugg M, Lucchinetti E, Garcia C, Pasch T, Spahn DR, Schaub MC (2003) Anaesthetics and cardiac preconditioning. Part II. Clinical implications. *Br.J.Anaesth.* 91:566-576

- 
128. Zaugg M, Lucchinetti E, Uecker M, Pasch T, Schaub MC (2003) Anaesthetics and cardiac preconditioning. Part I. Signalling and cytoprotective mechanisms. *Br.J.Anaesth.* 91:551-565
  129. Zhu L, Lemoine S, Babatasi G, Lepage O, Massetti M, Gerard JL, Hanouz JL (2009) Sevoflurane- and desflurane-induced human myocardial post-conditioning through Phosphatidylinositol-3-kinase/Akt signalling. *Acta Anaesthesiol.Scand.* 53:949-956
  130. Ziegeler S, Raddatz A, Hoff G, Buchinger H, Bauer I, Stockhausen A, Sasse H, Sandmann I, Horsch S, Rensing H (2006) Antibiotics modulate the stimulated cytokine response to endotoxin in a human ex vivo, in vitro model. *Acta Anaesthesiol.Scand.* 50:1103-1110
  131. Ziegeler S, Raddatz A, Schneider SO, Sandmann I, Sasse H, Bauer I, Kubulus D, Mathes A, Lausberg HF, Rensing H (2009) Effects of haemofiltration and mannitol treatment on cardiopulmonary-bypass induced immunosuppression. *Scand.J.Immunol.* 69:234-241
  132. Ziegenfuss T, Wanner GA, Grass C, Bauer I, Schuder G, Kleinschmidt S, Menger MD, Bauer M (1999) Mixed agonistic-antagonistic cytokine response in whole blood from patients undergoing abdominal aortic aneurysm repair. *Intensive Care Med.* 25:279-287

## **8 Publikationen**

### **8.1 Originalartikel**

Publikation in Progress:

Ziegeler S, Schneider SO, Mathes AM, Fink T, Stoll S, Kreuer S, Grundmann U, Kubulus D, Larsen R, Rensing H

Differential Effects of Sevoflurane, Desflurane and Propofol on Stimulated Cytokine Release following Cardiopulmonary Bypass

### **8.2 Kongressbeiträge (Poster)**

Ziegeler S, Buchinger H, Fink T, Stoll S, Christmann T, Rensing H, Larsen R

Immunfunktion nach EKZ in Abhängigkeit von der Art der Allgemeinanästhesie  
Posterpräsentation DAC 2006

## 9 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Reinhard Larsen und Herrn Prof. Dr. med. Thomas Volk für die Möglichkeit der Durchführung dieser Arbeit an der Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie des Universitätsklinikums des Saarlandes, sowie für ihre fortwährende Förderung meiner Arbeit.

Für die hervorragende Betreuung, die großartige Unterstützung und für die Überlassung des Themas möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Ulrich Grundmann und Herrn Dr. med. Stephan Ziegler bedanken. Ihre konstruktive Kritik, die anregenden Diskussionen und die unermüdlichen Korrekturarbeiten haben maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Ein herzlicher Dank geht an Frau Beate Wolf für ihre exzellente Anleitung und ihre tatkräftige Unterstützung bei den laborchemischen Analysen sowie ihre grenzenlose Geduld und ihre hilfreichen Ratschläge.

Meinen Mitdoktoranden Tina Christmann und Stefanie Stoll danke ich herzlich für die gute Zusammenarbeit und ihre zuverlässige Unterstützung, sowie für die schöne Zeit im Labor.

Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn PD Dr. med. Stefan Gräber für die hervorragende Beratung bei jeglicher Art von statistischen Fragen und Problemen.

Ein herzlicher Dank an alle Mitarbeiter und Doktoranden der Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie des Universitätsklinikums des Saarlandes und allen Korrekturlesern, die mir wertvolle Anregungen zur Verbesserung der Arbeit gegeben haben.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mich während der Zeit des Studiums und auch darüber hinaus stets liebevoll unterstützt haben und immer uneingeschränkt hinter mir stehen.