

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. C. Spies
 2. Prof. Dr. med. K. Stangl
 3. Prof. Dr. med. U. Schirmer

Datum der Promotion: 11. März 2008

Vorveröffentlichung

Teile dieser Arbeit wurden vor Abschluss des Promotionsverfahrens mit der Genehmigung des Promotionsausschusses veröffentlicht:

1. Originalarbeit:

Vera von Dossow MD, Nadine Bähr, Maryam Moshirzadeh MD, Uday Jain MD, Christian von Heymann MD, Jan Braun MD, Ortrud Vargas Hein MD, Michael Sander MD, Klaus-D. Wernecke, Wolfgang Konertz MD, Claudia Spies MD.

CLONIDINE ATTENUATED EARLY PROINFLAMMATORY RESPONSE IN T-CELLS SUBSETS AFTER CARDIAC SURGERY

(Anesth Analg 2006, 103: 809-814)

2. Teilergebnis:

Society of Cardiovascular Anesthesiologists (SCA) 2004, Honolulu, Hawaii

V. von Dossow, N. Bähr, M. Moshirzadeh, C. von Heymann, J.P. Braun, O. Vargas Hein, M. Sander, K.D. Wernecke, W. Konertz, W.J. Kox, C.D. Spies.

CLONIDINE AND THE T-CELL MEDIATED IMMUNITY AFTER CARDIAC SURGERY

(Anesth Analg 2004; 98 Suppl.: SCA 59)

INHALT

1	Abkürzungen	6
2	Einleitung	7
2.1	Kardiochirurgische Eingriffe unter Verwendung der extrakorporalen Zirkulation	7
2.2	Perioperative Immunmodulation unter Verwendung der extrakorporalen Zirkulation	8
2.3	Clonidin	11
3	Fragestellung und Zielsetzung	13
4	Patienten und Methoden	14
4.1	Patientenkollektiv und Gruppeneinteilung	14
4.2	Einschluss- und Ausschlusskriterien	14
4.3	Anästhesie	15
4.4	Abbruchkriterien	18
4.5	Probengewinnung	19
4.6	Bestimmung der T-Zell-vermittelten Immunität	19
4.7	Auswertungsprotokoll	29
4.8	Zytokinbestimmung	30
4.9	Statistik	32
5	Ergebnisse	33
5.1	Basischarakteristika	33
5.2	Vorerkrankungen	35
5.3	Operationsverlauf	36
5.4	Vitalparameter	37
5.5	Ramsay Sedation Scales	40

5.6	Kreislaufstabilisierende Medikamente	41
5.7	Postoperativer Verlauf und Komplikationen	42
5.8	Immunparameter	43
5.9	Entzündungsparameter	46
6.	Diskussion	48
6.1	Wichtigste Ergebnisse	48
6.2	T-Zell-vermittelte Immunreaktivität	48
6.3	Entzündungsparameter	51
6.4	Hämodynamik	52
6.5	Analgesiedierung	53
6.6	Methodenkritik	54
6.7	Schlussfolgerung	55
7.	Zusammenfassung	56
8.	Anhang	58
8.1	Abbildungen	58
8.2	Tabellen	59
9.	Literatur	60
10.	Curriculum Vitae	70
11.	Danksagung	71
12.	Erklärung an Eides Statt	73

1 ABKÜRZUNGEN

ACTH	Adreno-Corticotropes Hormon
APACHE	Acute Physiology And Chronic Health Evaluation
CABG	Coronary Artery Bypass Graft
CD	Cluster of Differentiation
CRH	Corticotropin Releasing Hormon
CRP	C-Reaktives Protein
CPAP	Continuous Positive Airway Pressure
ELISA	Enzym Linked Immuno Sorbend Assay
FITC	Fluorescein-Isothiocyanat
FSC	Forward Scatter
FACS	Fluorescence-Activated Cell Sorting
HLM	Herzlungenmaschine
HPA	Hypothalamus-Pituitary-Adrenal
HRP	Horseradish Peroxidase
IFN	Interferon
IL	Interleukin
LVEF	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion
MODS	Multi-Organ-Dysfunktions-Syndrom
PBS	Phosphate Buffered Saline
PE	Phycoerythrin
PerCP	Peridinin-Chlorophyl-Protein
PMA	Phorbol-12-myristate-13-acetate
RSS	Ramsay Sedation Scales
SEM	Standard Error of the Mean
SIRS	Systemically Inflammatory Response Syndrome
SSC	Side Scatter
SVR	Systemischer vaskulärer Widerstand
TH-	T-Helfer-
TMB	Tetramethylbenzidin
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor

7 ZUSAMMENFASSUNG

Herzchirurgische Eingriffe unter Verwendung der extrakorporalen Zirkulation sind mit einer massiven und unbalancierten Zytokinausschüttung assoziiert, die wiederum eine Beeinflussung der T-Zell-vermittelten Immunantwort zur Folge hat. Alpha-2-Agonisten werden additiv zur Standardsedierung verwendet, da sie die Stressreaktion durch Verminderung des Sympathikotonus perioperativ reduzieren. Der Einfluss des Clonidins auf die T-Zell-vermittelte Immunantwort ist bislang unklar.

Primäres Ziel der Studie war es zu prüfen, ob der perioperative Einsatz von Clonidin zu einer Beeinflussung der T-Zell-vermittelten Immunantwort, im Besonderen der Th₁/Th₂-Subpopulationen führt. Als Sekundäres Ziel sollte die Beeinflussung der systemischen Entzündungsreaktion unter Clonidin festgestellt werden.

Es wurden insgesamt 40 Patienten, die sich einer elektiven aortokoronarer Venenbypass-Operation (ACVB) unterzogen, nach Einholung der schriftlichen Einverständniserklärung in die kontrollierte, doppelblind prospektive, randomisierte Studie eingeschlossen. Die Studienmedikation (Clonidin/Placebo) wurde nach der Narkoseeinleitung mit einer Dosierung von 1 µg/kg/h bis maximal 3 µg/kg/h appliziert und postoperativ den Schwankungen der Sedierungstiefe angepasst bzw. durch Propofol (1-3 mg/kg/h) ergänzt. Die Bestimmung der Sedierungstiefe erfolgte anhand der Ramsay Sedation Scales (RSS) und war für beide Gruppen gleich. Zielparameter waren die IFN_γ und IL-4-Sekretionen der CD4⁺- und CD8⁺-Lymphozyten, aus denen die TH₁/TH₂- und Tc₁/Tc₂-Ratio gebildet wurde. Die Zytokin-Bestimmungen zu den fünf Zeitpunkten „Prae-OP“, „ITS-Aufnahme“, „ITS 6h“, „ITS 12h“ und „ITS 1d“ wurden mittels eines Durchflusszytometers erfasst. SIRS-Parameter und Laktat-Werte wurden im Rahmen des Monitorings gemessen.

Beide Gruppen unterschieden sich nicht hinsichtlich ihrer Basischarakteristika und der Ramsey Sedation Scales. Die Placebogruppe verbrauchte im Vergleich zur Clonidingruppe mehr Propofol. In der Clonidingruppe wurden sechs Stunden postoperativ im Vergleich zur Placebogruppe signifikant erniedrigte TH₁/TH₂- und Tc₁/Tc₂-Ratios festgestellt (p < 0,05). Eine Verminderung der IL-10-Konzentration fand sich zu diesem Zeitpunkt in der Clonidingruppe lediglich tendenziell.

Zusammenfassend lässt sich schlussfolgern, dass Clonidin durch Reduktion des Sympathikotonus zu einer frühen T-Zell-Veränderung zugunsten der proinflammatorischen Immunantwort führen könnte, wohingegen die systemische Entzündungsreaktion durch direkte Interaktion von Clonidin unbeeinflusst zu scheinen bleibt. Klinisch könnten Patienten zukünftig durch eine mögliche Stabilisierung der Immunbalance durch die perioperative Gabe von Clonidin profitieren. Hinsichtlich der Komplikationsraten nach der früh-postoperativen Phase kardiochirurgischer Eingriffe unter Verwendung der Herzlungenmaschine sind sicherlich noch weitere Untersuchungen nötig, um den Einsatz von α_2 -Rezeptoragonisten in diesem Rahmen zu definieren.

8 ANHANG

8.1 Abbildungen

- Abb. 1 Regulation der TH₁/TH₂-Antwort [Pharmacol. Reviews, Elenkov IJ, 2000]
- Abb. 2 Exemplarische Darstellung von intrazellulärem IL-4 in CD3⁺CD8⁻ Lymphozyten
- Abb. 3 Exemplarische Darstellung von intrazellulärem IFN- γ in CD3⁺CD8⁻ Lymphozyten
- Abb. 4 Zellreihen gesamt (FACS-Messung)
- Abb. 5 Protokoll der A-Reihe (FACS-Messung)
- Abb. 6 Protokoll der B- und C-Reihe (FACS-Messung)
- Abb. 7 Patientenrandomisierung
- Abb. 8 Mittlerer arterieller Blutdruck (MANOVA)
- Abb. 9 Herzfrequenz (MANOVA)
- Abb. 10 Ramsay Sedation Scales (MANOVA)
- Abb. 11 TH₁/TH₂-Ratio (Median und Interquartile)
- Abb. 12 Tc₁/Tc₂-Ratio (Median und Interquartile)
- Abb. 13 Laktat (Mittelwert \pm SEM)

8.2 Tabellen

Tab. 1	Farbstoffverteilung der Oberflächenfärbung
Tab. 2	intrazelluläre Farbstoffverteilung
Tab. 3	Basischarakteristika (Mittelwert \pm SEM)
Tab. 4	Vorerkrankungen
Tab. 5	Operations-Verlauf
Tab. 6	Vitalparameter (Median und Interquartile)
Tab. 7	Katecholamine
Tab. 8	Propofol und Morphin
Tab. 9	TH ₁ /TH ₂ -Ratio
Tab. 10	Tc ₁ /Tc ₂ -Ratio
Tab. 11	Leukozyten und CRP

10 CURRICULUM VITAE

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

11 DANKSAGUNG

An erster Stelle gilt mein allerherzlichster Dank meiner Doktormutter, Frau Univ.-Prof. Dr. med. Claudia Spies, geschäftsführende Direktorin der Klinik für Anästhesiologie und operativen Intensivmedizin der Medizinischen Fakultät der Charité-Universitätsmedizin Berlin Charité Campus Mitte und Campus Virchow-Klinikum, für die Überlassung des Themas, für ihre unermüdliche Unterstützung meiner wissenschaftlichen Arbeit sowie für die kontinuierliche Betreuung meiner Promotion während der gesamten Zeit.

Zu herzlichem Dank für seine Kooperation mit unserer Studie bin ich auch Herrn Prof. Dr. med. Wolfgang Konertz, Direktor der Klinik für kardiovaskuläre Chirurgie der Medizinischen Fakultät der Charité-Universitätsmedizin Berlin Campus Mitte, verpflichtet.

Mein Dank gilt außerdem meiner Betreuerin Frau Dr. Maryam Moshirzadeh für die beratende Unterstützung und Motivation während des Projektes und den Studenten Klaus Weihrauch, Denise Beesk und Nooria Alizei.

Frau Dr. Vera von Dossow danke ich für ihre konstruktiven Anregungen und die kritische Durchsicht meines Manuskriptes.

Ich möchte mich ebenso bei Frau Dr. Conny Höflich aus dem Institut für Medizinische Immunologie (Direktor: Prof. Dr. H.-D. Volk) für ihre fundierte Unterstützung bei der Lösung immunologischer Probleme bedanken.

Des Weiteren danke ich Frau Dr. Dipl.-Ing. Gerda Siebert aus dem Institut für Medizinische Biometrie (Direktor: Prof. Dr. K.-D. Wernecke) für ihre kompetente Hilfestellung bei den statistischen Analysen.

Ein sehr herzlicher Dank gilt außerdem Dirk Hermeyer für die unterstützende Hilfe bei der Ausarbeitung von Graphiken und Diagrammen.

Des Weiteren möchte ich mich bei allen Ärzten, Schwestern und Pflegern der Intensivstationen und der OP-Bereiche der Klinik der Charité-Universitätsmedizin Campus Mitte bedanken.

Zu danken habe ich ferner allen Patienten, ohne deren Zustimmung diese Studie niemals hätte durchgeführt werden können.

Ein ganz besonderer Dank sei an dieser Stelle meiner Familie gewidmet, insbesondere meinen Eltern Monique und Manfred Bähr sowie meinem Bruder Pascal Bähr, die mich mit viel Unterstützung und Liebe all die Jahre durch mein Studium begleitet haben. Danke für die lieben ermutigenden Worte.

12 ERKLÄRUNG an Eides Statt

Ich, Nadine Bähr, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Beeinflussung der T-Zell-vermittelten Immunreaktivität durch Clonidin nach kardiochirurgischen Eingriffen“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

.

Hamburg, den

Nadine Bähr

