

Ausschreibung des DGAI-Forschungsstipendiums der Fresenius-Stiftung

Die 39. Wissenschaftlichen Arbeitstage der Deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin e. V. (DGAI) werden vom **14. – 15.03.2025** in Würzburg, Residenzgaststätten B. Neumann, veranstaltet.

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

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

2025 wird das DGAI-Forschungsstipendium der Fresenius-Stiftung für eine hervorragende Forschungsarbeit mit 15.000 € dotiert. Grundlagenforschung und klinische Forschung sollen gleichermaßen gefördert werden.

Nähere Informationen:

www.wat-wuerzburg.de

E-Mail: wat_wuerzburg@ukw.de

Abstracts der 38. Wissenschaftlichen Arbeitstage der DGAI

01.–02.03.2024, Würzburg

Inhalt

Maschinelles Lernen identifiziert klinische Sepsis-Phänotypen in einer multizentrischen, prospektiven Kohorte, die sich auf Ebene des Plasma-Proteoms unterscheiden	
T. Bracht · M. Bayer · B. Koos · S. Ramesh · K. Schork · M. Eisenacher · T. Rahmel · M. Unterberg · H. Haberl · A. Wolf · M. Adamzik · B. Sitek · H. Nowak	337
Selbstbeurteilte körperliche Belastbarkeit zur Vorhersage von postoperativen pulmonalen Komplikationen und schweren unerwünschten kardialen Ereignissen – Eine prospektive Observationsstudie (PRESELECT)	
A. Dankert · P. Pujanek · L. Plümer · S. Sehner · C. Zöllner · M. Petzoldt	339
Erworbener δ-Granula-Mangel und GPV Shedding als Outcome-Prädiktor unter ECMO-Therapie	
J. Herrmann · L. J. Weiss · K. Mott · C. Lotz · P. Meybohm · H. Schulze	340
Bedeutung von Thrombozytenaggregaten und Thromboinflammation als diagnostische Frühmarker bei Sepsis und Fieber	
J. Krell · S. Burdorf · K. Javarappa · J. Kostner · M. Cove · O. Hayden · S. Rasch · M. Schlegel · G. Schneider	342
Antikoagulation bei COVID-19-PatientInnen – Eine aktualisierte systematische Übersichtsarbeit mit Meta-Analyse	
S. Reis · A. Faske · I. Monsef · F. Langer · O. J. Müller · P. Kranke · P. Meybohm · S. Weibel	343
Kardiovaskulär-renaales-metabolisches Syndrom: Assoziation mit postoperativen Komplikationen nach nicht kardiochirurgischer Operation	
S. Roth · R. M'Pembele · A. Stroda · E. Mauermann · D. Ionescu · S. J. Howell · D. Kindgen-Milles · G. Lurati Buse	345
Der Glukokortikoid-induzierte Leuzin-Zipper (GILZ) als potenzieller Biomarker für die Vorhersage der Sterblichkeit bei Sepsis	
S. Rusev · C. Sombetzki · M. Mühlhaus · P. Thon · B. Dyck · D. Ziehe · T. Rahmel · M. Unterberg · B. Marko · H. Nowak · A. Zarbock · F. Wappler · S. F. Ehrentraut · M. Adamzik · B. Koos · K. Rump	346
Optimierung der individualisierten Antibiotikatherapie: Analyse eines Multi-Modell-Ansatzes zur Dosierung von Piperacillin	
L. M. Schatz · S. Greppmair · A. K. Kunzelmann · J. Starp · A. Brinkmann · A. Roehr · O. Frey · S. Hagel · C. Dorn · M. Zoller · C. Scharf · S. G. Wicha · U. Liebchen	347
Netrin-1-Regulation und deren Einfluss auf die Immunantwort bei Sepsis: Beobachtungen aus klinischen Daten und einem murinen CLP-Sepsismodell	
K. F. Schreyer · J. Stettmer · L. Ziegler · N. van Witzenburg · R. Reuten · M. Ballmann · E. Hirsali · S. Fuchs · J. Krell · G. Schneider · M. Schlegel	348
Inflammation mit oxidativem Stress induziert eine mitochondriale Proteinimportstörung in einem Zellkulturmodell der Sepsis	
P. Thon · F. Zimmer · A. Kobas · J. Rassow · I. Schmitz · R. Stoll · K. Rump · D. Ziehe · J. Peters · M. Adamzik · B. Koos · T. Rahmel	350
Die Hemmung der Indolamin-2,3-Dioxygenase-1 (IDO) in der murinen Endotoxinämie reduziert die Bildung des Vasodilatators Kynurenin	
M. T. Voelker · H. Banze · A. Kaiser · J. Bender · K. I. Josy · A. Böhme · S. Trump · C. A. Opitz · S. N. Stehr · R. Werdehausen · V. Eulenburg · S. Laudi	351
Effekt einer Dipeptidylpeptidase-4(DPP4)-Inhibition auf die vaskuläre Homöostase während systemischer Inflammation	
C. Cursiefen · K. Hellenthal · L. Brabenec · L. Cyran · P. Meybohm · N.-M. Wagner	353
Die Proteininteraktion der mitochondrialen Transkriptionsfaktoren A und B2 in peripheren mononukleären Blutzellen ist mit dem 30-Tage-Überleben bei schwerer COVID-19-Erkrankung assoziiert	
B. Westhus · P. Thon · K. Rump · B. Koos · C. Putensen · S. Ehrentraut · A. Zarbock · T. von Groote · D. Ziehe · M. Adamzik · T. Rahmel	354
Die Aktivierung des MAPK-Netzwerks bietet einen Überlebensvorteil in der Spätphase von COVID-19: Analyse einer multizentrischen COVID-19-Sepsis-Kohorte unter realen Bedingungen	
A. Witowski · L. Palmowski · T. Rahmel · H. Nowak · M. Adamzik · B. Koos · K. Rump · B. Sitek · T. Bracht · M. Bayer · D. Ziehe	355

Die Vorträge, deren Abstracts nachfolgend publiziert werden, wurden in einem verblindeten Verfahren von sieben Gutachtern ausgewählt und auf den Wissenschaftlichen Arbeitstagen der DGAI am 01.–02.03.2024 gehalten und diskutiert.

Die Ausschreibung für die Wissenschaftlichen Arbeitstage 2025 der Fresenius-Stiftung und das DGAI-Forschungsstipendium der Fresenius-Stiftung finden Sie auf der Seite 335.

Maschinelles Lernen identifiziert klinische Sepsis-Phänotypen in einer multizentrischen, prospektiven Kohorte, die sich auf Ebene des Plasma-Proteoms unterscheiden

T. Bracht^{1,2} · M. Bayer^{1,2} · B. Koos¹ · S. Ramesh³ · K. Schork² · M. Eisenacher² · T. Rahmel¹ · M. Unterberg¹ · H. Haberl¹ · A. Wolf¹ · SepsisDataNet.NRW Research Group · CovidDataNet.NRW Research Group · M. Adamzik¹ · B. Sitek^{1,2} · H. Nowak^{1,3}

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

Korrespondenz: thilo.bracht@rub.de

Hintergrund

In Deutschland erkrankten jedes Jahr etwa 280.000 Patienten an einer Sepsis; davon sterben täglich mehr als 150 Patienten. Aktuell beschränken sich die wirksamen Therapiemaßnahmen auf die Behandlung der zu Grunde liegenden Infektion und supportive Maßnahmen. Spezifische Behandlungsoptionen, welche direkt die molekularen Veränderungen der Sepsis adressieren, konnten bislang nicht hinreichend identifiziert werden. Da jede Sepsis durch individuelle Verläufe gekennzeichnet ist, schließt sich ein generalistischer Therapieansatz aus. Mit dem Ziel einer zukünftigen individualisierten Sepsis-Therapie haben wir mittels maschinellen Lernens (ML) klinische Sepsis-Phänotypen in einer multizentrischen, prospektiven Kohorte identifiziert und diese mittels Plasma-Proteomics charakterisiert.

Methoden

Im Rahmen der SepsisDataNet.NRW- und CovidDataNet.NRW-Studien wurden bei kritisch kranken Sepsispatienten klinische Routedaten aus dem Patienten-Daten-Management-System gesammelt sowie eine umfangreiche Biobank aufgebaut. Hieraus wurden bei 384 Patienten aus drei Zentren klinische Variablen am Tag der Sepsisdiagnose ausgewählt, die folgende Eigenschaften aufwiesen: 1.) „Standardparameter“, welche routinemäßig bestimmt werden, 2.) Verfügbarkeit von Werten in mehr als 70 % der Fälle, 3.) die Variable ist in der Lage, die klinische Ausprägung der Organschädigung des septischen Patienten darzustellen und nicht Ausdruck eines Behandlungsregimes (z. B. Medikamentengaben). Im nächsten Schritt wurde zur Dimensionsreduktion eine Hauptkomponentenanalyse (Principal Component Analysis, PCA) durchgeführt. Die Identifikation der Sepsis-Phänotypen erfolgte durch Clusteranalyse unter Anwendung des k-Means-Algorithmus auf den Ergebnissen der PCA. Zusätzlich wurden Plasmaproben von 276 Patienten mittels Flüssigchromatographie-gekoppelter Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) analysiert und die Konzentrationen relevanter Zytokine mittels Immunoassays im Serum bestimmt. Die gewonnenen Daten wurden im Kontext der klinischen Phänotypen statistisch ausgewertet und interpretiert.

Ergebnisse

Es wurden drei klinische Phänotypen identifiziert. Cluster A (n = 25) zeichnete sich durch die höchste Krankheitsschwere aus und war klinisch durch ein Multiorganversagen mit führendem Leberversagen bei einer Mortalität von 92 % charakterisiert. In Cluster C (n = 144), mit einer Mortalität von 47,2 %, zeigten sich ebenfalls relevante Organinsuffizienzen, wobei im Vergleich zu Cluster B

(n = 215) insbesondere eine Nierenschädigung auffällig war. Mehrere Zytokine unterschieden sich signifikant zwischen Cluster A sowie Cluster B und C, wobei IL6, IL8, IL10 und IL18 zwischen allen klinischen Phänotypen differenziell (p < 0,001) und in ihren Konzentrationen mit der Krankheitsschwere assoziiert waren (signifikante Pearson-Korrelation mit SOFA-Score). Auf Ebene des Plasma-Proteoms zeigten sich massive Unterschiede zwischen Cluster A und den Clustern B und C. Diese spiegelten das Organversagen der Patienten in Cluster A wider und zeigten prominent den Verbrauch von Koagulationsfaktoren und Proteinen des Komplementsystems. Der Unterschied zwischen Cluster B und C war insgesamt weniger ausgeprägt, doch spiegelte sich auch hier eine erhöhte Krankheitsschwere in Cluster C wider. Die differenziellen Proteine standen unter anderem im Zusammenhang mit Komplement- und Koagulationssystem und der Neutrophilen-Aggregation.

Schlussfolgerungen

Die durch einen ML-Ansatz identifizierten klinischen Phänotypen zeigten unterschiedliche Schweregrade der Sepsis und damit verbunden der beteiligten Zytokine und ließen sich auf die Ebene des Plasma-Proteoms übertragen. Die differenziellen Proteine erlauben einen tieferen Einblick in die molekularen Prozesse der Sepsis und eröffnen die Möglichkeit, die identifizierten Phänotypen in der Zukunft auf molekularer Ebene näher zu charakterisieren. Dieser Ansatz kann die Grundlage für zukünftige zielgerichtete Therapieansätze der Sepsis ebnen.

Abbildung 1

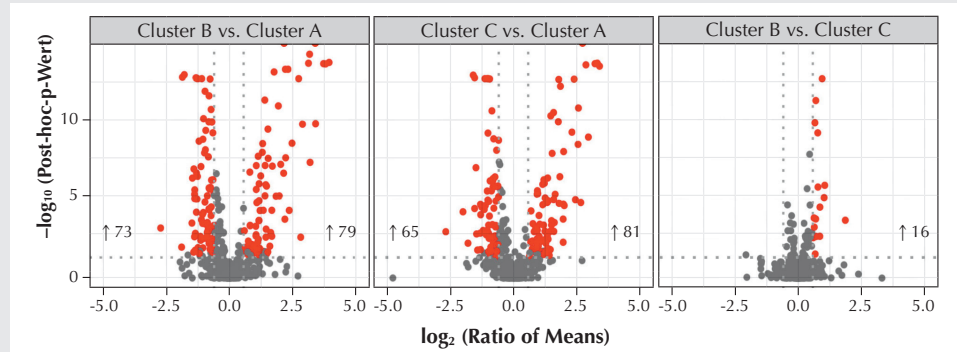
(A) Basischarakteristika und Zytokin-Konzentrationen. Angaben als Median (IQR) oder n (%); ¹ p-Werte adjustiert für multiples Testen.

	Cluster A (n = 25)	Cluster B (n = 215)	Cluster C (n = 144)	p	p ¹ (A vs. B)	p ¹ (A vs. C)	p ¹ (B vs. C)
Alter [a]	67,0 (61,0–76,0)	63,5 (53,3–76,0)	68,0 (59,0–77,3)	0,023	0,362	0,998	0,026
Weibliches Geschlecht	12 (48 %)	89 (41 %)	50 (35 %)	0,293	–	–	–
Infektionsfokus				<0,001	0,001	0,700	<0,001
- Abdomen	10 (40 %)	40 (19 %)	40 (28 %)	–	–	–	–
- Blutstrom	3 (12 %)	7 (3 %)	11 (8 %)	–	–	–	–
- Harnwege	0 (0 %)	7 (3 %)	14 (10 %)	–	–	–	–
- Lunge	5 (20 %)	78 (36 %)	43 (30 %)	–	–	–	–
- ZNS	0 (0 %)	9 (4 %)	0 (0 %)	–	–	–	–
- COVID-19	1 (4 %)	59 (27 %)	15 (10 %)	–	–	–	–
- anderer	6 (24 %)	15 (7 %)	21 (15 %)	–	–	–	–
SOFA-Score	15,0 (13,0–17,0)	7,0 (4,0–10,0)	10,0 (7,0–14,0)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
30-Tage-Mortalität	23 (92 %)	60 (28 %)	68 (47 %)	<0,001	<0,001	<0,001	0,001
Lactat [mmol/l]	15,0 (8,5–18,3)	2,0 (1,5–2,8)	3,0 (1,9–5,0)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
pH	7,2 (7,1–7,2)	7,4 (7,3–7,4)	7,3 (7,2–7,3)	<0,001	<0,001	0,001	<0,001
Kreatinin [mg/dl]	1,8 (1,1–3,2)	1,0 (0,7–1,3)	1,9 (1,2–3,1)	<0,001	<0,001	0,892	<0,001
GOT [U/l]	2432,4 (1047,3–5363,5)	40,0 (22,8–66,5)	61,3 (32,3–169,0)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
GPT [U/l]	1165,5 (571,9–2131,2)	25,6 (14,6–45,6)	38,6 (17,6–87,6)	<0,001	<0,001	<0,001	0,001
Zytokine (pg/ml)							
IL6	2372 (371–7513)	136 (52–418)	401 (104–1107)	<0,001			
IL8	521 (267–1165)	49 (27–98)	106 (58–235)	<0,001			
IL10	178 (80–359)	5 (0–12)	12 (6–33)	<0,001			
IL18	1117 (445–4513)	205 (114–503)	460 (226–895)	<0,001			

GOT: Glutamat-Oxalacetat-Transaminase; GPT: Glutamat-Pyruvat-Transaminase; IL: Interleukin; SOFA-Score: Sequential organ failure assessment score; ZNS: Zentralnervensystem

(B) Ergebnisse der statistischen Auswertung der Plasma-Proteomics-Daten, dargestellt als Volcano-Plots. Relative Unterschiede der Mittelwerte (Ratio of Means), aufgetragen gegen die Post-hoc-Test-p Werte der paarweisen Vergleiche zwischen den klinischen Clustern.

Signifikante Proteine rot gezeichnet (Filterkriterien: ANOVA p_{FDR}-Wert ≤ 0,05, Post-hoc-Test-p-Wert ≤ 0,05, Ratio of Means ≥ 1,5 oder ≤ 0,67). Zahlen zeigen die Anzahl signifikant differenzieller Proteine an, die im betreffenden Cluster höher abundant waren.



Selbstbeurteilte körperliche Belastbarkeit zur Vorhersage von postoperativen pulmonalen Komplikationen und schweren unerwünschten kardialen Ereignissen – Eine prospektive Observationsstudie (PRESELECT)

A. Dankert¹ · P. Pujanek¹ · L. Plümer¹ · S. Sehner² · C. Zöllner¹ · M. Petzoldt¹

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

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

Korrespondenz: a.dankert@uke.de

Hintergrund

Die Quantifizierung der körperlichen Belastbarkeit, etwa mittels einer Selbstbeurteilung des Patienten, ist ein essenzieller Bestandteil der präoperativen kardialen Risikoevaluation. Während eine aktuelle multizentrische Studie keine verbesserte Vorhersage schwerer unerwünschter kardialer Ereignisse (MACE) mittels durch den Patienten selbstbeurteilter körperlicher Belastbarkeit ergab [1], ist unbekannt, ob die körperliche Belastbarkeit zur Prädiktion von postoperativen pulmonalen Komplikationen (PPC) geeignet sein könnte [2,3]. Ziel dieser Studie war es daher, die Hypothese zu prüfen, dass die Fläche unter der Receiver-Operating-Characteristic-Kurve (Area Under Curve, AUC) eines auf soziodemographischen Daten sowie der Operationsart beruhenden multivariablen Regressionsmodells zur Prädiktion des primären Endpunktes PPC durch die Hinzunahme der selbstbeurteilten körperlichen Belastbarkeit verbessert werden kann. Ein sekundäres Ziel war zudem zu prüfen, ob die Hinzunahme der selbstbeurteilten körperlichen Belastbarkeit die Prädiktion von MACE verbessern kann.

Methoden

Nach positivem Votum der Ethikkommission der Ärztekammer Hamburg vom 19. April 2019 (PV7061) und Registrierung auf Clinical-Trials.gov (NCT04156594) wurden in diese monozentrische, prospektive Beobachtungsstudie namens PRESELECT Patienten eingeschlossen, bei denen eine nicht herzchirurgische Operation in Allgemein-anästhesie geplant war. Die selbstbeurteilte körperliche Belastbarkeit wurde anhand des Duke Activity Status Index (DASI) mittels Fragebogen erhoben und in metabolische Äquivalente umgerechnet. Ein multivariablen Regressionsmodell „Basismodell“ (Alter, Body Mass Index, Geschlecht und Operationsart) sowie ein „Selbstbeurteilungsmodell“ (mit zusätzlicher selbstbeurteilter körperlicher Belastbarkeit) wurden modelliert und die AUC mit 95%-Konfidenzintervall (95%-KI)

für die Vorhersage des primären Endpunktes PPC und des sekundären Endpunktes MACE berechnet. Der nichtparametrische Test nach DeLong wurde zum Vergleich der AUCs unterschiedlicher Modelle verwendet. Das zweiseitige Signifikanzniveau wurde auf 5 % festgelegt.

Ergebnisse

Zwischen dem 11. April 2019 und dem 2. November 2022 willigten 5.500 nicht herzchirurgische Patienten in die Studienteilnahme ein, von diesen konnten 5.235 in die finale Analyse eingeschlossen werden. In dieser Kohorte lag die Inzidenz von PPC bei 5,0 % (262/5.235) und von MACE bei 2,2 % (117/5.235). Die selbstbeurteilte körperliche Belastbarkeit war ein unabhängiger Prädiktor für PPC (Odds Ratio 0,72, 95%-KI 0,67–0,77, $p < 0,001$) und MACE (Odds Ratio 0,81, 95%-KI 0,74–0,89, $p < 0,001$) in den Selbstbeurteilungsmodellen. Die AUC für die Vorhersage von PPC lag bei 0,82 (95%-KI 0,80–0,85) im Basismodell und 0,87 (95%-KI 0,84–0,89; $p < 0,001$) nach Hinzufügen der körperlichen Belastbarkeit (Selbstbeurteilungsmodell). Die AUC für die Vorhersage von MACE lag bei 0,77 (95%-KI 0,73–0,82) im Basismodell und 0,79 (95%-KI 0,75–0,83; $p = 0,057$) nach Hinzufügen der körperlichen Belastbarkeit (Abb. 1).

Schlussfolgerung

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Selbstbeurteilung der körperlichen Belastbarkeit mittels DASI eine gute Vorhersage von PPC ermöglicht und hierbei einen zusätzlichen prä-

diiktiven Wert gegenüber einer auf soziodemographischen Daten und der Operationsart basierenden Vorhersage erzielt. Im Gegensatz dazu weist die Vorhersage von MACE mittels DASI Limitationen auf.

Finanzierung

Diese Studie wurde ohne externe Fördermittel ausschließlich aus dem Budget des Zentrums für Anästhesiologie finanziert.

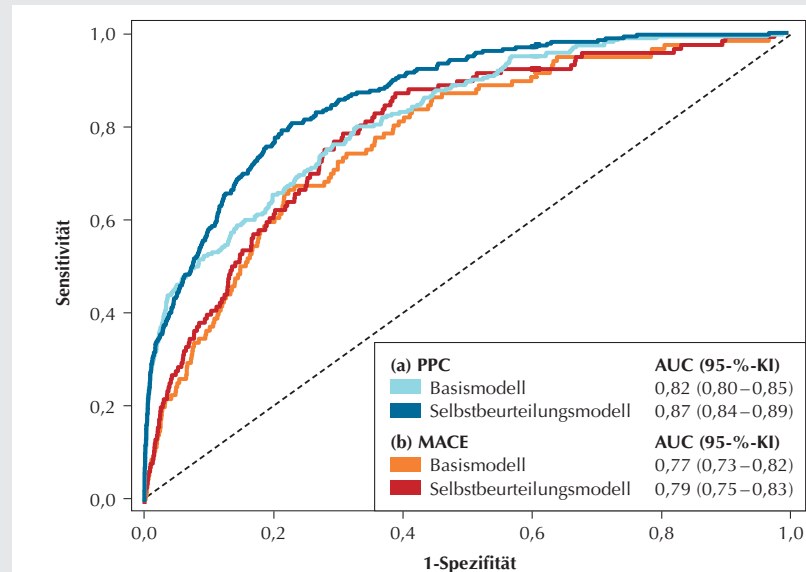
Interessenkonflikte

MP erhielt eine Forschungsförderung von Verathon Inc., Bothell, WA, USA. Alle anderen Autoren geben keine Interessenkonflikte an.

Literatur

1. Lurati Buse GA, Mauermann E, Ionescu D, Szczeklik W, De Hert S, Filipovic M, et al: Risk assessment for major adverse cardiovascular events after noncardiac surgery using self-reported functional capacity: international prospective cohort study. *Br J Anaesth* 2023;130:655–665
2. Dankert A, Neumann-Schirmbeck B, Dohrmann T, Greiwe G, Plümer L, Löser B, et al: Preoperative Spirometry in Patients With Known or Suspected Chronic Obstructive Pulmonary Disease Undergoing Major Surgery: The Prospective Observational PREDICT Study. *Anesth Analg* 2023;137:806–818
3. Dankert A, Neumann-Schirmbeck B, Dohrmann T, Plümer L, Wünsch VA, Sasu PB, et al: Stair-Climbing Tests or Self-Reported Functional Capacity for Preoperative Pulmonary Risk Assessment in Patients with Known or Suspected COPD-A Prospective Observational Study. *J Clin Med* 2023;12:4180.

Abbildung 1



Flächen unter der Receiver-Operating-Characteristic-Kurve (AUC) mit 95%-Konfidenzintervall (95%-KI) für die multivariablen Basis- und Selbstbeurteilungsmodelle zur Vorhersage von (a) postoperativen pulmonalen Komplikationen (PPC) und (b) schweren unerwünschten kardialen Ereignissen (MACE).

Erworbener δ -Granula-Mangel und GPV Shedding als Outcome-Prädiktor unter ECMO-Therapie

J. Herrmann¹ · L. J. Weiss^{2,3} · K. Mott² · C. Lotz¹ · P. Meybohm¹ · H. Schulze²

- 1 Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum Würzburg
- 2 Institut für Experimentelle Biomedizin, Universitätsklinikum Würzburg
- 3 Medizinische Klinik und Poliklinik I, Universitätsklinikum Würzburg

Korrespondenz: Herrmann_J4@ukw.de

Hintergrund

Die Extrakorporale Membranoxygenierung (ECMO) gilt als Ultima Ratio bei akutem respiratorischem Versagen (ARDS). Bei diesen Patienten sind Gerinnungskomplikationen häufig und verschlechtern das Outcome erheblich [1]. Thrombozyten sind zentraler Bestandteil der Hämostase und können Matrixproteine wie Kollagen oder von-Willebrand-Faktor (vWF) über entsprechende Oberflächenrezeptoren (Glykoprotein IIb/IIIa und Ib-V-IX) erkennen, was zur Aktivierung und Aggregation mit Freisetzung von gespeicherten α -/ δ -Granula, Fibrinogenquervernetzung und schließlich Thrombusbildung führt. Aktuelle Daten weisen auf eine noch unerwartete Funktion von GPV, einer Untereinheit des vWF-Rezeptors, hin. Durch Thrombin kann

die lösliche GPV-Ektodomäne (sGPV) freigesetzt werden, was die Aktivität von Thrombin und die Fibrinbildung inhibiert und darüber eine antithrombotische Wirkung zeigt. Durch spezifische Antikörper kann GPV Shedding blockiert werden, was sich als wirksame Strategie zur Umkehrung eines Blutungsphänotyps erwies [2].

Ziel

Diese Studie soll untersuchen, ob die ECMO einen spezifischen Einfluss auf die Thrombozytenaktivität einschließlich der GPV-sGPV-Achse hat.

Methode

Insgesamt wurden 36 Patienten mit COVID-19-induziertem ARDS rekrutiert (n = 13 ECMO vs. n = 23 non-ECMO). Zu drei Zeitpunkten (t1 = Tag 1–3; t2 = Tag 4–6; t3 = Tag 7–14 nach Studieneinschluss) wurde Blut entnommen und mit Gesunden verglichen. Der Phänotyp und die Funktion der Blutplättchen wurden mittels Durchflusszytometrie analysiert. Die Freisetzung von δ -Granula wurde per Mepacrin-Assay, die Anzahl von δ -Granula per Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) und die In-vitro-Blutungszeit per PFA-200 untersucht.

Ergebnisse

Die GP-IIb/IIIa-Aktivierung und die P-Selektin-Exposition als Reaktion auf ADP, TRAP-6 oder CRP-XL waren bei allen Patienten unab-

hängig von der ECMO reduziert. Im Verlauf der ECMO-Behandlung zeigten sich die Aufnahme und TRAP-6-induzierte Freisetzung von Mepacrin rückläufig (mittlerer GeoMFI (ECMO) t1: 37,2 vs. t3: 15; p < 0,05), während bei non-ECMO keine Unterschiede im Verlauf zu beobachten waren. Gleichzeitig nahm die Anzahl der δ -Granula pro Thrombozyt im Verlauf der ECMO-Therapie kontinuierlich ab. Die Expression der vWF-Rezeptor-Untereinheit GPIX blieb insgesamt unverändert, die GPV-Expression war jedoch unter ECMO verglichen mit non-ECMO um 21 % reduziert (Abb. 1A). Zudem zeigten sich die PlasmasGPV-Spiegel unter ECMO-Therapie selektiv erhöht, was auf eine geräteassoziierte Freisetzung hindeutet (Abb. 1B). Niedrige sGPV-Werte unter ECMO-Therapie waren mit reduziertem Überleben verbunden (Überlebende: 0,042 vs. Versterbende: 0,016; p < 0,05).

Schlussfolgerung

Unabhängig von der ECMO-Therapie zeigt sich die Aktivierung von Thrombozyten bei ARDS-Patienten deutlich eingeschränkt. Ein spezifischer Mangel an thrombozytären δ -Granula unter ECMO weist auf einen erworbenen Mangel der δ -Granula hin. Dies ist die erste Studie, die eine ausgeprägte Herunterregulation von GPV auf Thrombozyten und einen damit einhergehenden Anstieg des PlasmasGPV-Spiegels bei ECMO zeigt. Die Assoziation zwischen sGPV mit dem Überleben unter ECMO-Therapie deutet darauf hin, dass die GPV-sGPV-Achse als therapeutische Zielstruktur genutzt werden kann.

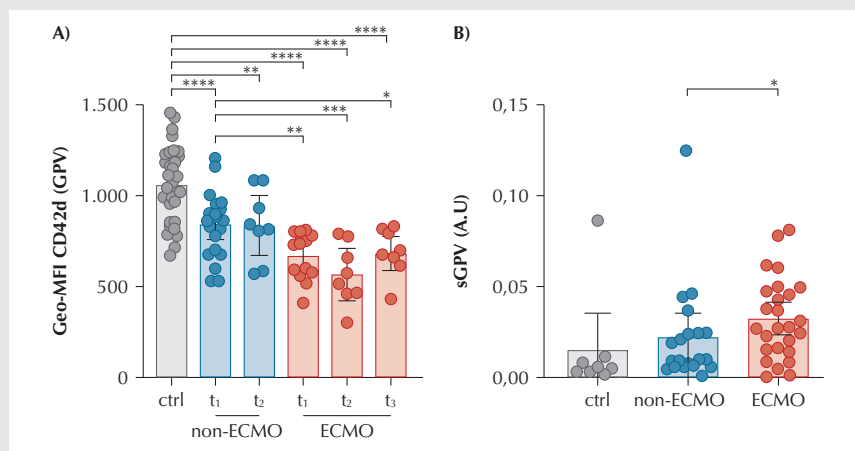
Interessenkonflikt

Es bestehen keine Interessenkonflikte.

Literatur

1. Mansour A, Flecher E, Schmidt M, Rozec B, Gouin-Thibault I, Esvan M, et al: Bleeding and thrombotic events in patients with severe COVID-19 supported with extracorporeal membrane oxygenation: a nationwide cohort study. *Intensive Care Med* 2022;48:1039–1052
2. Beck S, Öftering P, Li R, Hemmen K, Nagy M, Wang Y, et al: Platelet glycoprotein V spatio-temporally controls fibrin formation. *Nat Cardiovasc Res* 2023;2:368–382.

Abbildung 1



ECMO aggraviert die inflammatorisch bedingte Freisetzung von Glykoprotein V (GPV).

Charakteristika von Gesunden (ctrl, grau) und Patienten mit COVID-19 ohne ECMO-Therapie (non-ECMO, blau) oder mit ECMO-Therapie (ECMO, rot) sind zu den folgenden Zeitpunkten gezeigt: t1 = Tag 1–3, t2 = Tag 4–6, t3 = Tag 7–14 nach Studieneinschluss. (A) Oberflächenexpression von CD42d (GPV) in Durchflusszytometrie. (B) Plasmakonzentration von löslicher GPV-Ektodomäne (sGPV) in ELISA aus plättchenarmem Plasma. Alle Graphen zeigen Mittelwert \pm Standardabweichung (SD). Unterschiede wurden per Kruskal-Wallis-Test analysiert.

ns: nicht signifikant; *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001; ****p < 0,0001; **Geo-MFI**: geometric mean fluorescence intensity.

Bedeutung von Thrombozytenaggregaten und Thromboinflammation als diagnostische Frühmarker bei Sepsis und Fieber

J. Krell¹ · S. Burdorf¹ · K. Javarappa² · J. Kostner¹ · M. Cove³ · O. Hayden² · S. Rasch¹ · M. Schlegel¹ · G. Schneider¹

1 Klinikum für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Klinikum rechts der Isar

2 TUM CREATE

3 National University Hospital, Singapur

Korrespondenz: Johannes.Krell@mri.tum.de

Einleitung

Thromboinflammation beschreibt das Zusammenspiel und die gegenseitige Aktivierung von Inflammation und der Gerinnungskaskade. Dabei verstärken die endotheliale Dysfunktion, die Aktivierung von Komplementsystem und auch die direkte Interaktion von Thrombozyten mit Leukozyten die Entzündungsantwort nicht nur bei Herz-Kreislauf-Erkrankungen, sondern auch beim Infektionsgeschehen. Die klinische Relevanz der Immuthrombose ist in den letzten Jahren nicht zuletzt aufgrund von COVID-19 [1] in den Fokus geraten. Jedoch sind die Untersuchungsmöglichkeiten der mikrovaskulären Thrombose insbesondere im Zusammenhang mit instabilen Thrombozytenaggregaten beschränkt, da durch die etablierten klinisch-analytischen Methoden unbeabsichtigt Thrombozyten aktiviert werden oder diese einen niedrigen Durchsatz haben. In dieser Studie verwendeten wir die digitale holographische Mikroskopie (DHM) in Kombination mit mikroskopischer Durchflusszytometrie, um das Potenzial der Plättchenaggregate als diagnostische Biomarker bei Sepsis und Fieber zu evaluieren.

Methoden

In dieser Studie untersuchten wir (nach Vorliegen der Einverständniserklärung) Thrombozytenaggregate im peripheren Blut von kritisch kranken Fieber- bzw. Sepsispatienten. Dazu entnahmen wir nach Vorliegen der Sepsis-3-Kriterien bei 39 Sepsispatienten am Klinikum rechts der Isar, München (Az: 249/20 S-EB) (Tab. 1) und bei 29 Patienten mit Fieber (>38,3 °C) in der Notaufnahme am National University Hospital Singapur 4 ml Citratblut an d1, d3 und d7 nach Diagnosestellung und erfassten mittels DHM, bildgebender Durchflusszytometrie (IFC) und konventioneller Durchflusszytometrie (FC) Zellmorphologie und Rezeptorexpression der Aggregate. Die statistische Signifikanz wurde mittels Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's Post-hoc bei nicht normalverteilten Daten oder ANOVA mit Tukey's Post-hoc bei normalverteilten Daten verglichen.

Ergebnisse

Wir stellten zunächst signifikant erhöhte Anteile von Thrombozytenaggregaten an der gesamten Thrombozytenpopulation bei Sepsis innerhalb der ersten 24 Stunden nach Diagnosestellung auf der Intensivstation fest (Abb. 1A). Dabei zeigten die nicht überlebenden Patienten im Vergleich zur überlebenden Kohorte einen deutlichen Anstieg der Thrombozytenaggregate im DHM. Die Gesamtzahl der Thrombozyten im Routinelabor war unterdessen unverändert (Tab. 1). Aufbauend darauf untersuchten wir die Struktur von Thrombozyten und deren Aggregaten bei Patienten mit Fieber in der Notaufnahme zum Aufnahmezeitpunkt. Unsere Analyse bestätigte einen generellen Anstieg der Aggregate im Vergleich zu gesunden Kontrollen (Abb. 1B) und enthüllte auch ein spezifisches morphologisches Merkmal, die Thrombozytendrizität, welches eine frühe Unterscheidung zwischen bakterieller und viraler Infektion erlaubt. Darüber hinaus zeigten alle Arten von Aggregaten in der IFC eine erhöhte Expression von CD62P, einem Marker für Thrombozytenaktivierung, sowie CD31/PECAM-1 im Vergleich zu einzelnen Zellen.

Ergebnisse

Diskussion

Die frühe Detektion von schweren Sepsisverläufen anhand der Erhöhung von Thrombozytenaggregaten kann zur Optimierung der Krankheitsprognose beitragen. Außerdem bietet die verbesserte Differenzierung viraler von bakterieller akuter Infektionen mittels der Thrombozytenmorphologie einen neuen diagnostischen Ansatz, welcher die unnötige Gabe von Antibiotika bei viralen Erkrankungen reduzieren könnte.

Diskussion

Literatur

1. Gu SX et al: Thrombocytopeny and endotheliopathy: crucial contributors to COVID-19 thromboinflammation. Nat Rev Cardiol 2021;18:194–209.

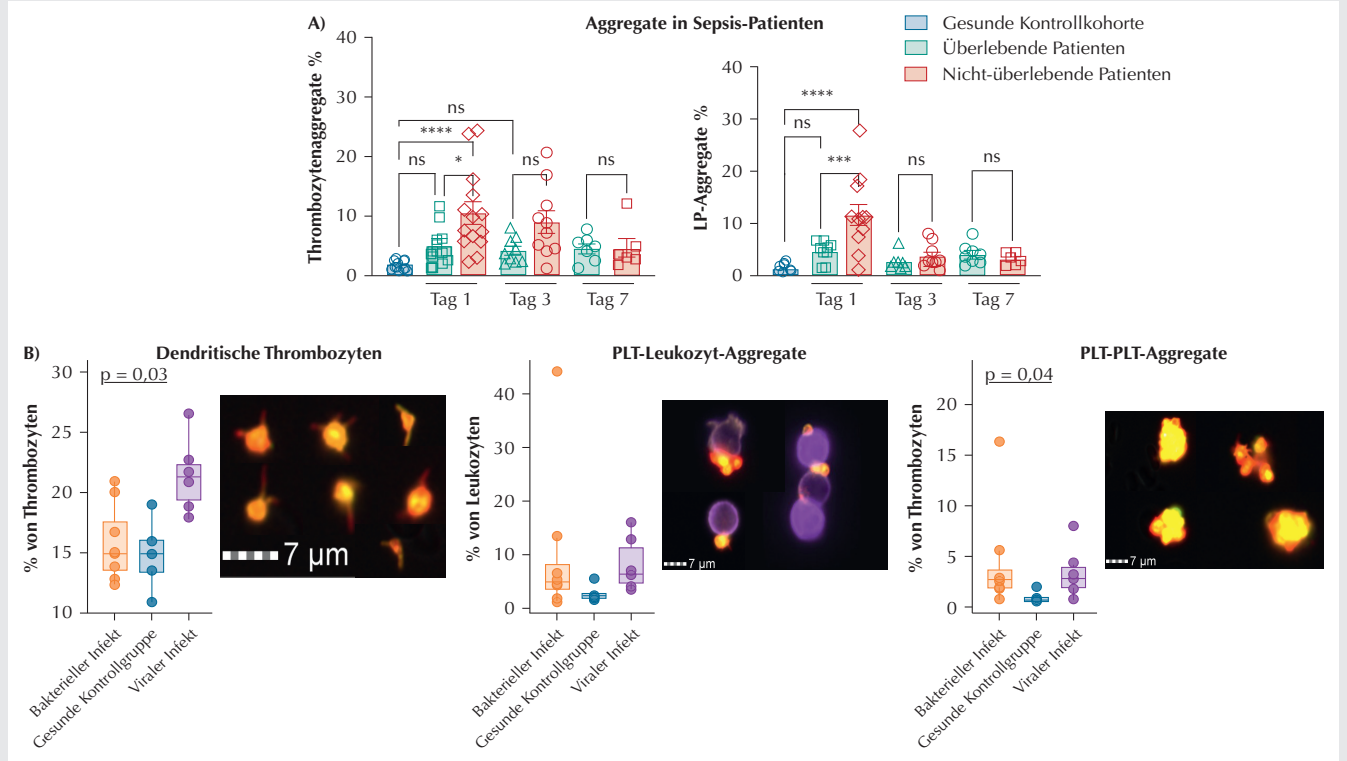
Tabelle 1

Übersichtstabelle über klinische Parameter der Sepsis-Kohorte bei Aufnahme auf die Intensivstation. Statistische Analyse: Zwei-Stichproben-t-Test.

	Fehlend	Gesamt-population	Nicht-überlebende	Überlebende	p-Wert
Patientenzahl		39	22	17	
Laktat arteriell (mg/dl)	0	2,3 (1,9)	2,7 (2,4)	1,7 (0,7)	0,067
Norepinephrin (mg/Tag)	0	14,1 (17,6)	19,4 (21,4)	7,3 (6,3)	0,019
APACHE-II-Score	0	28,5 (6,3)	30,2 (6,6)	26,4 (5,2)	0,051
AMV (l pro min)	4	9,6 (3,0)	9,6 (3,6)	9,7 (1,4)	0,884
CRP (mg/dl)	1	15,6 (9,6)	15,5 (10,8)	15,8 (8,0)	0,933
Kreatinin (mg/dl)	0	1,7 (0,8)	1,7 (0,9)	1,7 (0,7)	0,971
Fibrinogen (mg/dl)	1	493,1 (170,3)	485,0 (200,6)	504,1 (122,6)	0,719
GOT (ASAT) (U/l)	2	405,5 (937,2)	346,2 (736,9)	483,2 (1171,6)	0,685
Hämoglobingehalt Blut (mg/dl)	0	9,7 (1,2)	9,7 (1,2)	9,7 (1,3)	0,971
Horovitz-Index	4	207,4 (72,8)	199,3 (83,1)	221,3 (51,2)	0,340
Lymphozyten (1000/µl)	18	9,1 (9,6)	10,1 (12,3)	8,0 (5,8)	0,619
QUICK-Wert (%)	0	75,6 (17,2)	69,7 (18,4)	83,2 (12,3)	0,009
Mittlerer arterieller Blutdruck	0	79,1 (8,3)	76,8 (7,9)	82,1 (8,1)	0,049
SOFA-Score	0	11,4 (4,5)	12,4 (4,9)	10,1 (3,7)	0,109
aPTT	0	40,9 (9,7)	43,9 (11,1)	37,1 (5,9)	0,020
ASS-Einnahme	0	n = 7	n = 3	n = 4	
Thrombozyten (1000/µl)	0	189,0 (106,4)	189,3 (120,3)	188,7 (88,9)	0,987
Monozyten (1000/µl)	18	4,9 (2,8)	5,6 (3,3)	4,1 (1,9)	0,230
Leukozyten (1000/µl)	0	15,3 (6,2)	16,7 (6,9)	13,5 (4,8)	0,091
Tage auf ITS	0	20,1 (18,3)	19,8 (18,7)	20,4 (18,5)	0,927
Weibliches Geschlecht	0	18 (46,2)	11 (50,0)	7 (41,2)	0,823*
Alter	0	68,9 (14,8)	69,4 (15,2)	68,2 (14,8)	0,800
Beatmungstage (Gesamtaufenthalt)	0	12,5 (11,1)	12,6 (11,1)	12,4 (11,5)	0,956
Dialysetage	0	9,3 (17,7)	11,5 (22,1)	5,6 (4,9)	0,392

*: Chi-Quadrat-Test; **AMV:** Atemminutenvolumen; **ITS:** Liegedauer auf Intensivstation (in Tagen); **Verwendeter Test:** Zwei-Stichproben-t-Test.

Abbildung 1



A) DHM-Analyse des prozentualen Anteils von Trombozytenaggregaten an der Gesamthrombozytenzahl und PLT-Leukozyt-Aggregaten (LP-Aggregate) in 1:100 verdünntem Vollblut von Sepsispatienten auf der Intensivstation. Es wurde ein ANOVA mit Tukey's Post-hoc ausgeführt; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,005$; ***: $p < 0,0005$; ****: $p < 0,00005$.

B) IFC-Aufnahmen von Fieberpatienten der Notaufnahme, Thrombozyten und Aggregate mit Maßstab.

Verwendetes Antikörperperfarbung: CD31 (gelb), CD41a (rot), CD45 (violett), CD62P (grün). Differenzierung der Aggregatformierung mittels IFC bei Patienten mit Fieber und bakterieller oder viraler Genese und gesunden Kontrollen. Wir führten einen Kruskal-Wallis-Test mit Dunn's Post-hoc aus.

Antikoagulation bei COVID-19-PatientInnen – Eine aktualisierte systematische Übersichtsarbeit mit Meta-Analyse

S. Reis¹ · A. Faske¹ · I. Monsef² · F. Langer³ · O. J. Müller⁴ · P. Kranke¹ · P. Meybohm¹ · S. Weibel¹

- 1 Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum Würzburg
- 2 Institut für Öffentliches Gesundheitswesen, Cochrane Haematology, Universitätsklinikum Köln
- 3 II. Medizinische Klinik und Poliklinik, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
- 4 Klinik für Innere Medizin III, Deutsches Zentrum für Herz-Kreislauf-Forschung (DZHK), Hamburg/Kiel/Lübeck, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein

Korrespondenz: reis_s@ukw.de

Hintergrund

Thromboembolische Ereignisse sind häufige Komplikationen von COVID-19 [1].

Klinische Studienergebnisse zur Sicherheit und Wirksamkeit der Antikoagulation bei COVID-19-PatientInnen sind umstritten.

Material und Methoden

Dies ist die zweite Aktualisierung einer systematischen Übersichtsarbeit mit Metaanalyse (Protokollregistrierung bei PROSPERO am 21. Januar 2021, CRD42021229228) im Rahmen der AWMF S3-Leitlinie „Empfehlungen zur Therapie von Patienten mit COVID-19“. Die Übersichtsarbeit wird seitdem in Form einer lebenden systematischen Übersichtsarbeit regelmäßig um neue Studienergebnisse ergänzt, um die Sicherheit und Wirksamkeit einer Thromboseprophylaxe, Antikoagulation in halbt therapeutischer oder therapeutischer Dosis oder keiner Antikoagulation/Placebo bei stationären und ambulanten COVID-19-PatientInnen zu bestimmen. Geeignete randomisiert-kontrollierte Studien (RCTs) wurden bis 5. Oktober 2023 gesucht. Die Erkrankungsschwere der Teilnehmenden in den einzelnen Studien wurde entsprechend der

„WHO clinical progression scale“ klassifiziert [2]. Die Vertrauenswürdigkeit der Evidenz wurde mit GRADE bewertet [3]. Im Folgenden werden nur die Ergebnisse für stationäre Patienten präsentiert.

Ergebnisse

In diese Aktualisierung wurden acht neue RCTs und insgesamt 18 RCTs mit 10.787 PatientInnen aufgenommen. Die Vertrauenswürdigkeit der Evidenz reichte je nach Ergebnis und Vergleich von sehr niedrig bis hoch. Zu beachten gilt, dass viele Studien zu Beginn der Pandemie und vor den ersten Impfkampagnen oder einer bedeutenden Immunisierung rekrutierten. In 16 Studien endete der Rekrutierungszeitraum bereits vor Aufkommen der Omikron-Variante. Sechs Studien wurden in den Vergleich der Antikoagulation mit halbt therapeutischer Dosis versus Thromboseprophylaxe in niedriger Dosierung bei stationären COVID-19-PatientInnen aufgenommen. Antikoagulation in halbt therapeutischer Dosis kann bei statio-

nären PatientInnen mit mittelschwerem oder schwerem COVID-19 das Auftreten thrombotischer Ereignisse oder Todesfälle innerhalb von 28 Tagen verringern (Relatives Risiko(RR) 0,73, 95%-KI 0,33–1,59, 814 PatientInnen, 2 Studien) (Abb. 1A), kann gleichzeitig aber das Risiko für schwere Blutungen innerhalb von 28 Tagen erhöhen (RR 1,48, 95%-KI 0,66–3,33, 1.137 PatientInnen, 4 Studien). Insgesamt 14 Studien wurden in den Vergleich der Antikoagulation mit therapeutischer Do-

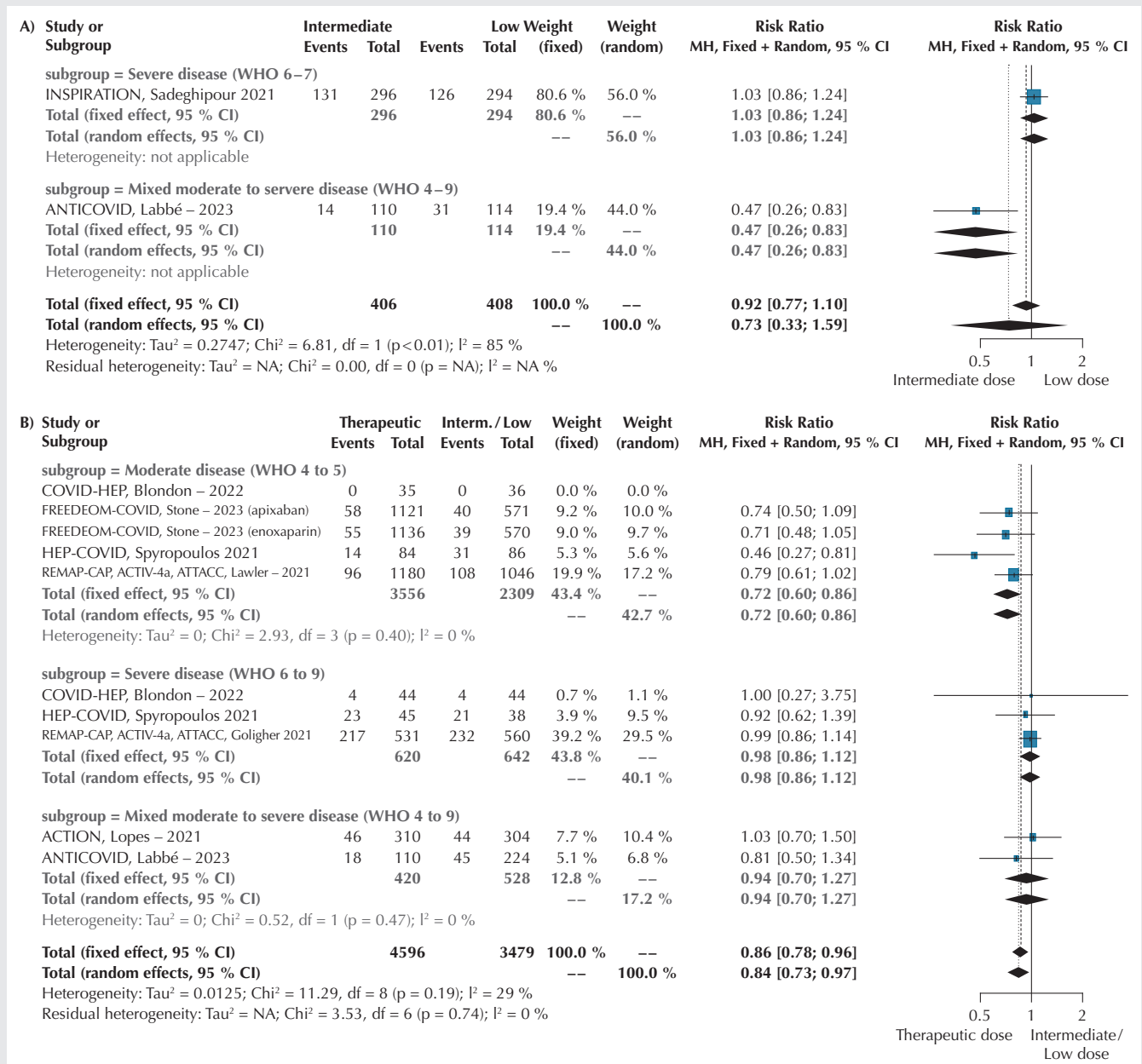
sis versus Thromboseprophylaxe in niedriger oder halbtherapeutischer Dosierung bei stationären COVID-19-PatientInnen aufgenommen. Bei PatientInnen mit mittelschwerem COVID-19 reduziert die therapeutische Antikoagulation das Auftreten thrombotischer Ereignisse oder Todesfälle innerhalb von 28 Tagen (RR 0,72, 95%-KI 0,60–0,86, 5.865 PatientInnen, 5 Studien) (Abb. 1B), hat aber wahrscheinlich wenig oder keine Wirkung bei PatientInnen mit schwerem COVID-19

(RR 0,98, 95%-KI 0,86–1,12, 1.262 PatientInnen, 3 Studien) (Abb. 1B). Therapeutische Antikoagulation erhöht das Risiko schwerer Blutungen innerhalb von 28 Tagen wahrscheinlich unabhängig vom Schweregrad der Erkrankung (RR 1,79, 95%-KI 1,25–2,56, 4.650 PatientInnen, 5 Studien).

Schlussfolgerungen

Hospitalisierte, mittelschwer erkrankte COVID-19-PatientInnen könnten von einer halb-

Abbildung 1



Forest-Plots zum Endpunkt „Thromboembolische Ereignisse oder Tod innerhalb von 28 Tagen“. **A)** Vergleich halbtherapeutische Antikoagulation versus Thromboseprophylaxe in niedriger Dosierung; **B)** therapeutische Antikoagulation versus Thromboseprophylaxe in niedriger/halbtherapeutischer Dosierung.

therapeutischen oder therapeutischen Antikoagulation profitieren, kritisch kranke PatientInnen hingegen nicht. In Anbetracht der unterrepräsentierten Daten zu aktuellen Virusvarianten und Populationen scheint unter Berücksichtigung des Blutungsrisikos ein individualisiertes Vorgehen ratsam.

Literatur

1. Synowiec A, Szczepański A, Barreto-Duran E, Lie LK, Pyrc K: Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): a Systemic Infection. *Clin Microbiol Rev* 2021;34:e001133–20
2. Marshall JC, Murthy S, Diaz J, Adhikari NK, Angus DC, Arabi YM, et al: A minimal common outcome measure set for COVID-19 clinical research. *Lancet Infect Dis* 2020;20:e192–e197
3. Schünemann HJ, Higgins JPT, Vist GE, Glasziou P, Akl EA, Skoetz N, et al: Completing 'Summary of findings' tables and grading the certainty of the evidence. 2021. In: *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*, Version 62. Available from: www.training.cochrane.org/handbook.

Kardiovaskulär-renales-metabolisches Syndrom: Assoziation mit postoperativen Komplikationen nach nicht kardiochirurgischer Operation

S. Roth¹ · R. M'Pembale¹ · A. Stroda¹ · E. Mauer mann² · D. Ionescu³ · S. J. Howell⁴ · D. Kindgen-Milles¹ · G. Lurati Buse¹

- 1 Klinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Düsseldorf
- 2 Institut für Anästhesiologie, Universitätsspital Zürich (Schweiz)
- 3 Iuliu Hatieganu Universität für Medizin und Pharmazie, Cluj-Napoca (Rumänien)
- 4 Institut für Medizinische Forschung, Universität Leeds (Großbritannien)

Korrespondenz:

sebastian.roth@med.uni-duesseldorf.de

Hintergrund

Zwischen kardiovaskulären Erkrankungen, chronischer Nierenkrankheit (CKD) und einem metabolischen Syndrom besteht ein komplexes pathophysiologisches Zusammenspiel [1]. Viele Patienten sind von mehr als einer dieser Störungen betroffen und es liegt gute Evidenz vor, dass dies mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität assoziiert ist [1]. Um den vielfältigen Interaktionen der verschiedenen Organsysteme besser gerecht zu werden, hat die American Heart Association (AHA) im Oktober 2023 die Definition eines neuen Syndroms veröffentlicht: das kardiovaskulär-renal-metabolische Syndrom (Cardiovascular-kidney-metabolic syndrome,

CKM-Syndrom) [2]. Neben metabolischen Störungen wie Adipositas und Diabetes mellitus sowie kardiovaskulären Erkrankungen wird in dieser Definition insbesondere Störungen der Nierenfunktion eine besondere Rolle zuteil. Auch im operativen Bereich ist das Zusammenspiel von Herz, Nieren und Metabolismus hochrelevant. Die Hypothese der vorliegenden Studie war, dass das CKM-Syndrom mit postoperativen Komplikationen nach nicht kardiochirurgischen Operationen assoziiert ist.

Methodik

Bei dieser Studie handelt es sich um eine Sekundäranalyse einer internationalen prospektiven Kohortenstudie, die knapp 16.000 nicht kardiochirurgische Patienten in 150 Zentren und 25 Ländern rekrutiert hat [3]. In die Analyse eingeschlossen wurden Patienten ≥ 45 Jahre mit erhöhtem kardiovaskulärem Risiko und vollständig vorliegenden Daten für die Bestimmung der Stadien des CKM-Syndroms. Die primär zu untersuchende Variable war das CKM-Syndrom, das per definitionem in fünf Stadien unterteilt wird. Der primäre Endpunkt waren postoperative kardiovaskuläre Komplikationen innerhalb von 30 Tagen (definiert als: kardiovaskuläre Mortalität, nicht tödlicher Herzstillstand, akuter Myokardinfarkt, Schlaganfall oder Herzinsuffizienz). Sekundärer Endpunkt waren die Mortalität sowie nicht kardiovaskuläre Komplikationen. Für die statistische Analyse wurde eine multivariate logistische Regression mit Adjustierung für Alter, Geschlecht und das OP-Risiko (gemäß Definition der Europäischen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin) durchgeführt.

Ergebnisse

Von 15.984 prospektiv rekrutierten Patienten konnten 14.634 in die finale Analyse einge-

schlossen werden (60,8 % männlich, mittleres Alter 72 ± 8 Jahre). Bei 308 Patienten (2,1 %) kam es innerhalb von 30 Tagen zu einer kardiovaskulären Komplikation und 335 Patienten (2,3 %) verstarben. Kardiovaskuläre Komplikationen waren wie folgt auf die CKM-Stadien verteilt: CKM 0: $5/367 = 1,4$ % [Konfidenzintervall (KI) 0,4–3,2 %]; CKM 1: $3/367 = 0,8$ % [KI 0,2–2,4 %]; CKM 2: $102/7.440 = 1,4$ % [KI 1,1–1,7 %]; CKM 3: $27/953 = 2,8$ % [KI 1,9–4,1 %]; CKM 4a (Glomeruläre Filtrationsrate (GRF) ≥ 15): $164/5.357 = 3,1$ % [KI 2,6–3,6 %]; CKM 4b (GFR < 15): $7/150 = 4,7$ % [KI 1,9–9,4 %] (Abb. 1). Die multivariate logistische Regression ergab einen unabhängigen Zusammenhang zwischen CKM-Syndrom Stadium ≥ 3 und kardiovaskulären Komplikationen, Mortalität sowie nicht kardiovaskulären Komplikationen (kardiovaskuläre Komplikationen: adjustierte Odds Ratio (OR); adjOR) = 2,26 [95%-Konfidenzintervall (95%-KI): 1,78–2,87], $p < 0,001$; Mortalität: adjOR = 1,42 [95%-KI: 1,13–1,78], $p = 0,002$; nicht kardiovaskuläre Komplikationen: adjOR = 1,11 [95%-KI: 1,03–1,20], $p = 0,005$).

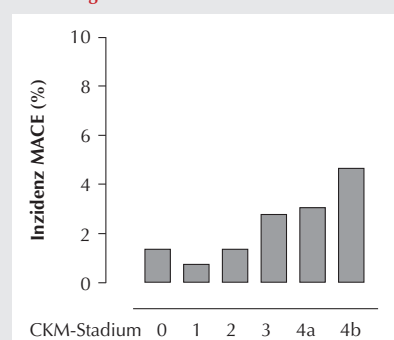
Schlussfolgerungen

In dieser großen internationalen Kohorte konnte gezeigt werden, dass das neu definierte CKM-Syndrom bei Patienten mit nicht kardiochirurgischer Operation mit einer erhöhten postoperativen Morbidität und Mortalität assoziiert ist. Diese Daten stützen die These, dass kardiovaskuläre, renale und metabolische Störungen pathophysiologisch auch perioperativ ganzheitlich und im wechselseitigen Kontext betrachtet werden sollten. Zukünftige Studien sollten untersuchen, inwieweit die Berücksichtigung des CKM-Syndroms im Rahmen der präoperativen Evaluation die perioperative Versorgung möglicherweise sicherer und patientengerechter gestalten könnte.

Literatur

1. Ndumele CE, Neeland IJ, Ruttle KR, Chow SL, Mathew RO, Khan SS, et al: A Synopsis of the Evidence for the Science and Clinical Management of Cardiovascular-Kidney-Metabolic (CKM) Syndrome: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation* 2023;148:1636–1664
2. Ndumele CE, Rangaswami JR, Chow SL, Neeland IJ, Tuttle KR, Khan SS, et al: Cardiovascular-Kidney-Metabolic Health: A Presidential Advisory From the American Heart Association. *Circulation* 2023;148:1606–1635
3. Lurati Buse GA, Mauer mann E, Ionescu D, Szczeklik W, De Hert S, Filipovic M, et al: Risk assessment for major adverse cardiovascular events after noncardiac surgery using self-reported functional capacity: international prospective cohort study. *Br J Anaesth* 2023;130:655–666.

Abbildung 1



Inzidenz kardiovaskulärer Komplikationen (MACE) in Abhängigkeit vom Stadium des kardiovaskulär-renal-metabolischen Syndroms (CKM-Syndrom).

Der Glukokortikoid-induzierte Leuzin-Zipper (GILZ) als potenzieller Biomarker für die Vorhersage der Sterblichkeit bei Sepsis

S. Rusev^{1,5} · C. Sombetzki^{1,5} · M. Mühlhaus^{1,5} · P. Thon^{1,5} · B. Dyck^{1,5} · D. Ziehe^{1,5} · T. Rahmel^{1,5} · M. Unterberg^{1,5} · B. Marko^{1,5} · H. Nowak^{1,5} · A. Zarbock^{2,5} · F. Wappler^{3,5} · S. F. Ehrentraut^{4,5} · M. Adamzik^{1,5} · B. Koos^{1,5} · K. Rump^{1,5}

- 1 Universitätsklinikum Knappschafts-Krankenhaus Bochum
- 2 Universitätsklinikum Münster
- 3 Klinikum der Universität Witten/Herdecke – Köln-Merheim
- 4 Universitätsklinikum Bonn
- 5 SepsisDataNet.NRW

Korrespondenz:

Stefan.Rusev@edu.ruhr-uni-bochum.de

Fragestellung

Die Sepsis ist eine lebensbedrohliche Organdysfunktion infolge einer dysregulierten Immunantwort auf eine Infektion [1]. Diese Immunreaktion aktiviert die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse (HPA-Achse). Die darauffolgende Produktion von adrenokortikalen Glukokortikoiden ist ein entscheidender Regulationsprozess während der Sepsis. Ein wichtiger Mediator der Glukokortikoide ist der Glukokortikoid-induzierte Leuzin-Zipper (GILZ), der Einfluss auf die Regulation intrazellulärer, pro- und antiinflammatorischer Prozesse in der Sepsis nimmt [2]. Der GILZ reguliert unter anderem die Expression verschiedener Zytokine, indem er mit dem Nuklearfaktor(NF)-kB-Signalweg interagiert. In tierexperimentellen Studien wurde bereits ein Einfluss von GILZ auf das Sepsis-Überleben gezeigt. In der vorliegenden Arbeit haben wir daher die Hypothese getestet, ob die GILZ-Serumkonzentration am Tag der Diagnosestellung mit dem Überleben bei Sepsis assoziiert ist und somit einen prognostischen Marker darstellt.

Material und Methoden

Es wurden Serum-Proben von 146 zufällig ausgewählten septischen Patienten nach der Sepsis-III-Definition aus dem prospektiven und multizentrischen „SepsisDataNet.NRW“-Projekt (Ethik-Votum: Reg.nr. 19-6606 3-BR) in dieser Post-hoc-Analyse untersucht. Die GILZ-Konzentrationsmessung erfolgte mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) an Tag 1 nach Diagnosestellung. Im Blutserum wurden zusätzlich 13 Zytokine mittels humanem LEGENDPlex-Assay an den Tagen 1, 3 und 8 nach Diagnosestellung gemessen. Die statistische Analyse mit Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 28.0.0. und GraphPadPrism umfasste Receiver-Operator-Characteristic(ROC)-Analysen, Kaplan-Meier-

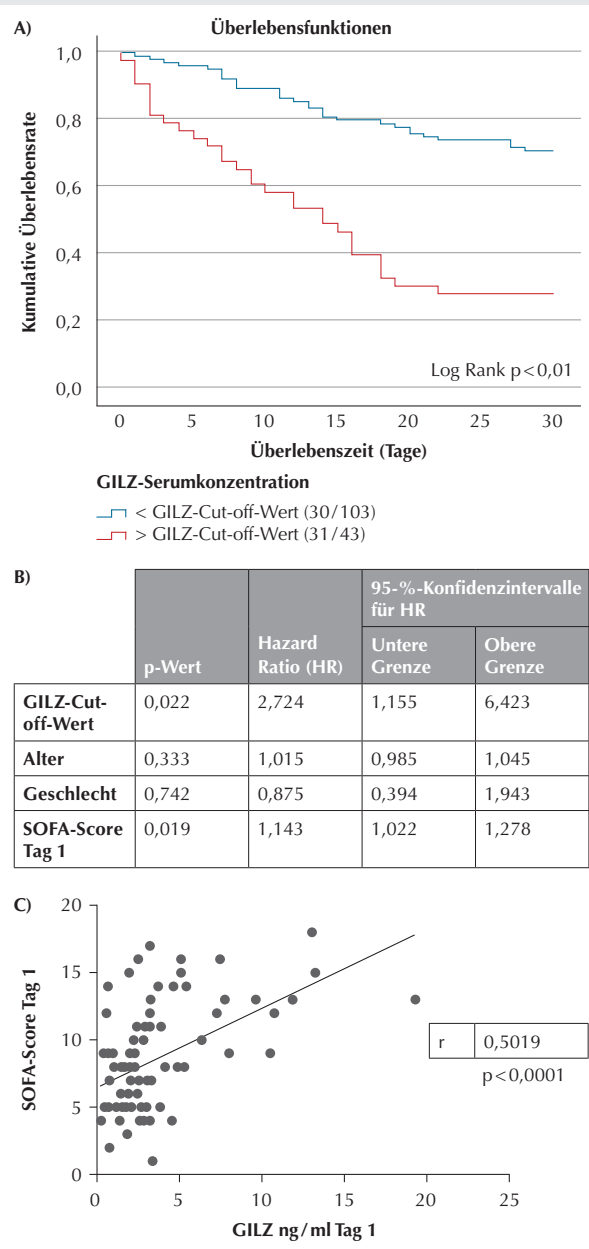
Analysen, multivariate Cox-Regression sowie Pearson- und Spearman-Korrelationsanalysen.

Ergebnisse

Die 146 untersuchten Patienten (65 % männlich, Alter 65 +/-14,5 Jahre) hatten einen medianen SOFA-Score von 8 [5–12]. Mittels ROC-Analyse und Youden-Index wurde eine GILZ-Cut-off-Konzentration (4,38 ng/ml) zur Diskriminierung zwischen Überleben und Versterben bestimmt. Eine erhöhte GILZ-Konzentration war mit einem um 40 % reduzier-

ten 30-Tage-Überleben assoziiert (HR = 3.781, p<0,001; Abb. 1A). In der multivariaten Cox-Regression zeigte sich der GILZ-Cut-off als ein unabhängiger Risikofaktor mit einer Hazard Ratio von 2,7 (p = 0,022) und hatte gleichzeitig einen stärkeren Einfluss auf das Überleben als die bekannten Risikofaktoren Alter, Geschlecht und SOFA-Score (Abb. 1B). Zusätzlich zeigte sich eine Korrelation der GILZ-Serumkonzentration mit dem SOFA-Score (r = 0,5019; P<0,0001; Abb. 1C) und den Zytokinen IL-β, IFN-γ, IFN-α2, IL-33,

Abbildung 1



A) Kaplan-Meier-Analyse des Cut-off-Wertes der GILZ-Serumkonzentration
B) multivariate Cox-Regulationsanalyse
C) Korrelationsanalyse zwischen GILZ-Serumkonzentration und SOFA-Score an Tag 1.

MCP-1, IL-6, IL-8, IL-17a, IL-18 (Tag 1), Tnf- α , IL-33, IL1 β , IFN α 2, IFN- γ , IL-8, IL-17a, IL-18 (Tag 3), IL-8 und IL-17 α (Tag 8) im Serum. Die stärkste Korrelation an Tag 1 zeigte die IL1- β -Konzentration ($r = 0,452$; $p < 0,001$).

Schlussfolgerung

Eine hohe GILZ-Konzentration im Serum septischer Patienten ist bereits an Tag 1 nach Diagnosestellung mit einer erhöhten 30-Tage-Letalität bei Sepsis assoziiert. Die GILZ-Serumkonzentration stellt somit einen potenziellen Biomarker für das Versterben bei der Sepsis dar. Zusätzlich korreliert sie mit dem Grad der Organdysfunktion (SOFA-Score) und verschiedenen Zytokinen. Aktuelle Untersuchungen klären nun, ob der GILZ aktiv ins Serum exportiert wird oder durch vermehrten Zelltod freigesetzt wird. Darüber hinaus sollen mögliche physiologische Funktionen von GILZ im Serum untersucht werden. Es ist somit gegenwärtig nicht abschließend zu klären, ob eine zu hohe GILZ-Konzentration in der Sepsis ein Epiphänomen der organspezifischen intrazellulären Stressreaktionen ist, oder ob sie selbst eine erhöhte Krankheits-schwere bedingt.

Literatur

1. S3-Leitlinie Sepsis – Prävention, Diagnose, Therapie und Nachsorge. AWMF-Registernummer: 079–001. Langversion 3.1–2018. Deutsche Sepsis Gesellschaft e. V. (federführend) Seite 51–53
2. He, YJ, Xu JQ, Sun MM, Fang XZ, Peng ZK, Pan SW, et al: Glucocorticoid-Induced Leucine Zipper: A Promising Marker for Monitoring and Treating Sepsis. *Front Immunol* 2023;11:606649.

Optimierung der individualisierten Antibiotikatherapie: Analyse eines Multi-Modell-Ansatzes zur Dosierung von Piperacillin

L. M. Schatz¹ · S. Greppmair¹ · A. K. Kunzelmann¹ · J. Starp¹ · A. Brinkmann² · A. Roehr³ · O. Frey³ · S. Hagel⁴ · C. Dorn⁵ · M. Zoller¹ · C. Scharf¹ · S. G. Wicha⁶ · U. Liebchen¹

- 1 Klinik für Anaesthesiologie, LMU Klinikum, LMU München
- 2 Klinik für Anästhesie, operative Intensivmedizin und spezielle Schmerztherapie, Kliniken Landkreis Heidenheim
- 3 Apotheke der Kliniken, Kliniken Landkreis Heidenheim
- 4 Institut für Infektionsmedizin und Krankenhaushygiene, Universitätsklinikum Jena
- 5 Institut für Pharmazie, Universität Regensburg
- 6 Abteilung für Klinische Pharmazie, Institut für Pharmazie, Universität Hamburg

Korrespondenz:

lea.schatz@med.uni-muenchen.de

Hintergrund

Piperacillin/Tazobactam ist auf deutschen Intensivstationen das am meisten verordnete Antibiotikum. Über- und Unterdosierungen sind jedoch häufig und mit Toxizität sowie therapeutischem Versagen assoziiert [1–3]. Die Kombination von Therapeutischem Drug Monitoring (TDM) und populationspharmakokinetischen Modellen wird als Model-Informed Precision Dosing bezeichnet und erhöht die Wahrscheinlichkeit des Erreichens therapeutischer Konzentrationen bei kritisch kranken Patient:innen [4]. Die Auswahl des besten populationspharmakokinetischen Modells für einzelne Patient:innen stellt jedoch eine Herausforderung dar (da es zahlreiche dieser Modelle gibt) und erfordert einen erheblichen Zeitaufwand durch geschultes Personal. Das Ziel dieser Analyse war es, die Vorhersageleistung von 24 veröffentlichten Piperacillin-Modellen als Single-Modell-Ansatz (SMA) mit zwei Multi-Modell-Ansätzen, einem model selection algorithm (MSA) und einem model averaging algorithm (MAA) zu vergleichen [5].

Methoden

Ein multizentrischer Datensatz (561 Patient:innen, 11 deutsche Zentren, 3.654 TDM-Konzentrationen) wurde verwendet, um die Vorhersageleistung der verschiedenen Ansätze anhand von Präzision (medianer absoluter Vorhersagefehler (MAPE [%]) und Richtigkeit (medianer Vorhersagefehler (MPE [%])) zu vergleichen. Hierfür wurden die erste oder erste und zweite TDM-Probe pro Patient:in dem Modell zur Verfügung gestellt. Die darauffolgenden TDM-Proben wurden für das Modell verblindet und nach dem

Prinzip von Bayes vorhergesagt und mit der gemessenen Konzentration verglichen. Der prozentuale Anteil an Patient:innen im therapeutischen Bereich wurde durch Umwandlung der Vorhersagefehler in Piperacillin-Konzentrationen ermittelt. Darüber hinaus wurde der Vorhersagefehler in Relation zur letzten integrierten TDM-Probe beurteilt. Der Zielbereich von Piperacillin wurde als 32 mg/L bis 96 mg/L (2–6 x die minimale Hemmkonzentration des Epidemiological-Cut-Off-Wertes für *Pseudomonas aeruginosa*) definiert.

Ergebnisse

Insgesamt lieferte der MAA bei der Integration der ersten TDM-Probe eine geringfügig bessere Vorhersageleistung im Vergleich zum MSA und dem besten Modell im SMA (1 TDM-Probe: MAPE/MPE: MAA: 23,3/0,39 %, MSA: 28,4/-2,3 %, SMA: 26,2/-3,61 %; Patient:innen im therapeutischen Bereich: MAA: 79,5 %, MSA: 75,1 %, SMA: 77,6 %). Die Einbeziehung einer zweiten TDM-Probe führte zu einer höheren Präzision in den Vorhersagen und mehr Patient:innen im therapeutischen Bereich bei allen Ansätzen, insbesondere jedoch bei der Verwendung von MSA und des besten Modells im SMA (2 TDM-Proben: MAPE/MPE: MAA: 22,6/3,7 %, MSA: 22,3/-3,69 %, SMA: 23,7/-0,92 %; Patient:innen im therapeutischen Bereich: MAA: 79,9 %, MSA: 80,3 %, SMA: 80,6 %). Die Vorhersageleistung aller Ansätze war innerhalb von 24 Stunden nach der Integration der letzten TDM-Daten besser im Vergleich zu einer längeren Verzögerung zwischen TDM-Probe und dem Zeitpunkt der Vorhersage (Abb. 1).

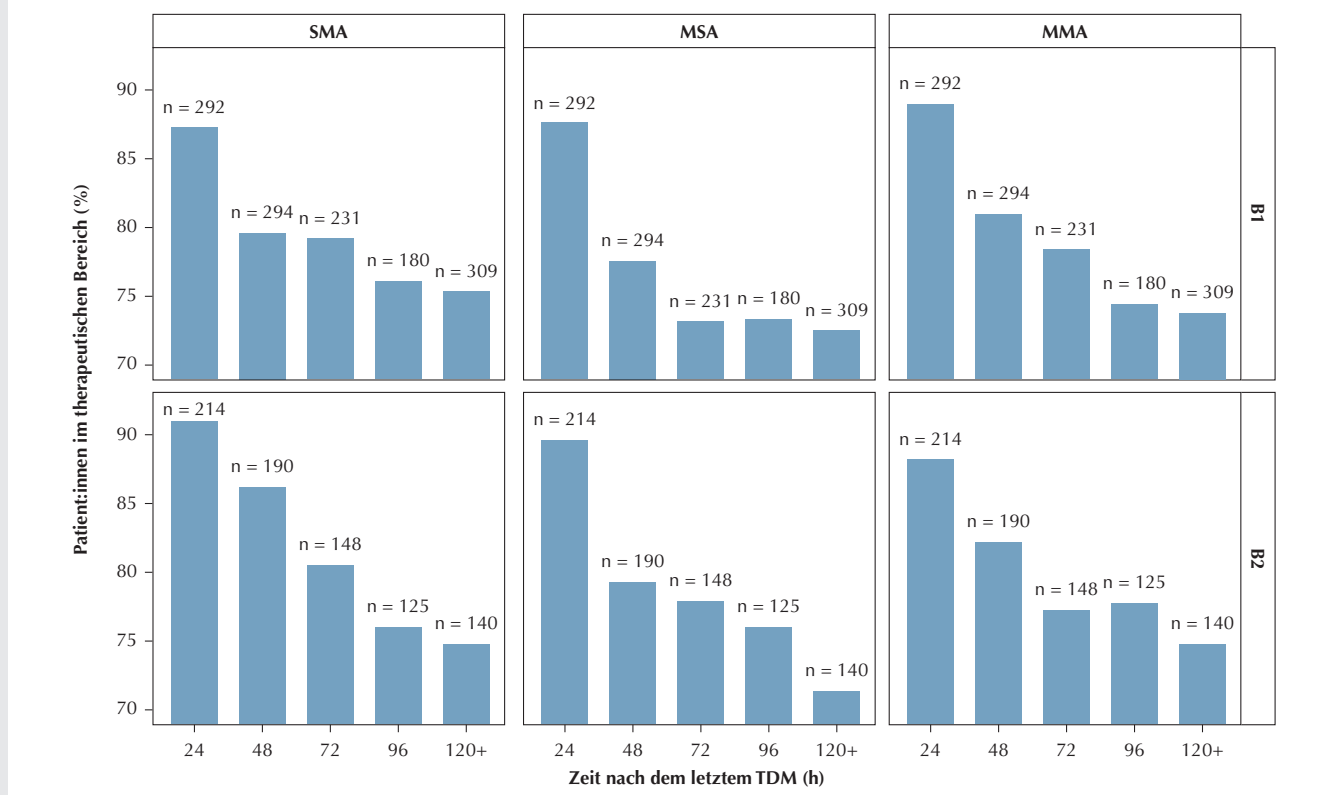
Fazit

Die Verwendung eines Multi-Modell-Ansatzes (z. B. MAA für 1 TDM-Probe und MSA für 2 TDM-Proben) führte zu einer leichten Verbesserung der Vorhersageleistung im Vergleich zu den besten Modellen bei der Verwendung des SMA. Darüber hinaus erleichtert die Implementierung eines Multi-Modell-Ansatzes die Verwendung von Model-Informed Precision Dosing im klinischen Alltag, da die Notwendigkeit für die individuelle Modellauswahl eliminiert wird. Dies spart Zeit und minimiert das Risiko, ein ungeeignetes Modell auszuwählen.

Literatur

1. Liebchen U, Paal M, Scharf C, Schroeder I, Grabein B, Zander J, et al: The ONTAI study – a survey on antimicrobial dosing and the practice of therapeutic drug monitoring in German intensive care units. *J Crit Care* 2020;60:260–266
2. Imani S, Buscher H, Marriott D, Gentili S, Sandaradura I: Too much of a good thing: a retrospective study of β -lactam

Abbildung 1



Patient:innen im therapeutischen Bereich (%) im Verhältnis zum Zeitintervall [h] seit der letzten integrierten Konzentration des Therapeutischen Drug Monitorings (TDM) für die Bayes'sche Vorhersage.

B1: Integration der ersten TDM-Probe pro Patient:in. **B2:** Integration der Vorhersage von der ersten und zweiten TDM-Probe pro Patient:in; **SMA:** Einzel-Modell-Ansatz (Kim et al. 2022 [6]); **MSA:** model selection algorithm (Verwendung der besten 5 SMA-Modelle); **MAA:** model averaging algorithm (Verwendung aller Modelle).

- concentration-toxicity relationships. *J Antimicrob Chemother* 2017;72:2891–2987
- Guilhaumou R, Benaboud S, Bennis Y, Dahyot-Fizelier C, Dailly E, Gandia P, et al: Optimization of the treatment with beta-lactam antibiotics in critically ill patients-guidelines from the French Society of Pharmacology and Therapeutics (Société Française de Pharmacologie et Thérapeutique-SFPT) and the French Society of Anaesthesia and Intensive Care Medicine (Société Française d'Anesthésie et Réanimation-SFAR). *Crit Care* 2019;23:104
- Grepplmair S, Brinkmann A, Roehr A, Frey O, Hagel S, Dorn C, et al: Towards model-informed precision dosing of piperacillin: multicenter systematic external evaluation of pharmacokinetic models in critically ill adults with a focus on Bayesian forecasting. *Intensive Care Med* 2023;49:966–976
- Uster D, Stocker SL, Carland JE, Brett J, Marriott DJE, Day RO, et al: A Model Averaging/Selection Approach Improves the Predictive Performance of Model-Informed Precision Dosing: Vancomycin as a Case Study. *Clin Pharmacol Ther* 2021;109(1):175–183
- Kim YK, Kim HS, Park S, Kim H, Lee SH, Lee D-H: Population pharmacokinetics of

piperacillin/tazobactam in critically ill Korean patients and the effects of extracorporeal membrane oxygenation. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2022;77:1353–1364. <https://doi.org/10.1093/jac/dkac059>.

Netrin-1-Regulation und deren Einfluss auf die Immunantwort bei Sepsis: Beobachtungen aus klinischen Daten und einem murinen CLP-Sepsismodell

K. F. Schreyer^{1*} · J. Stettmer^{1*} · L. Ziegler^{1*} · N. van Witzenburg¹ · R. Reuten² · M. Ballmann¹ · E. Hirsali¹ · S. Fuchs¹ · J. Krell¹ · G. Schneider¹ · M. Schlegel¹

1 Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin
Klinikum rechts der Isar
School of Medicine and Health, Technische Universität München

2 Institut für Experimentelle und Klinische
Pharmakologie und Toxikologie, Medizinische
Fakultät, Universität Freiburg

* geteilte Erstautorschchaft

Korrespondenz: korbinian.schreyer@tum.de

Einleitung

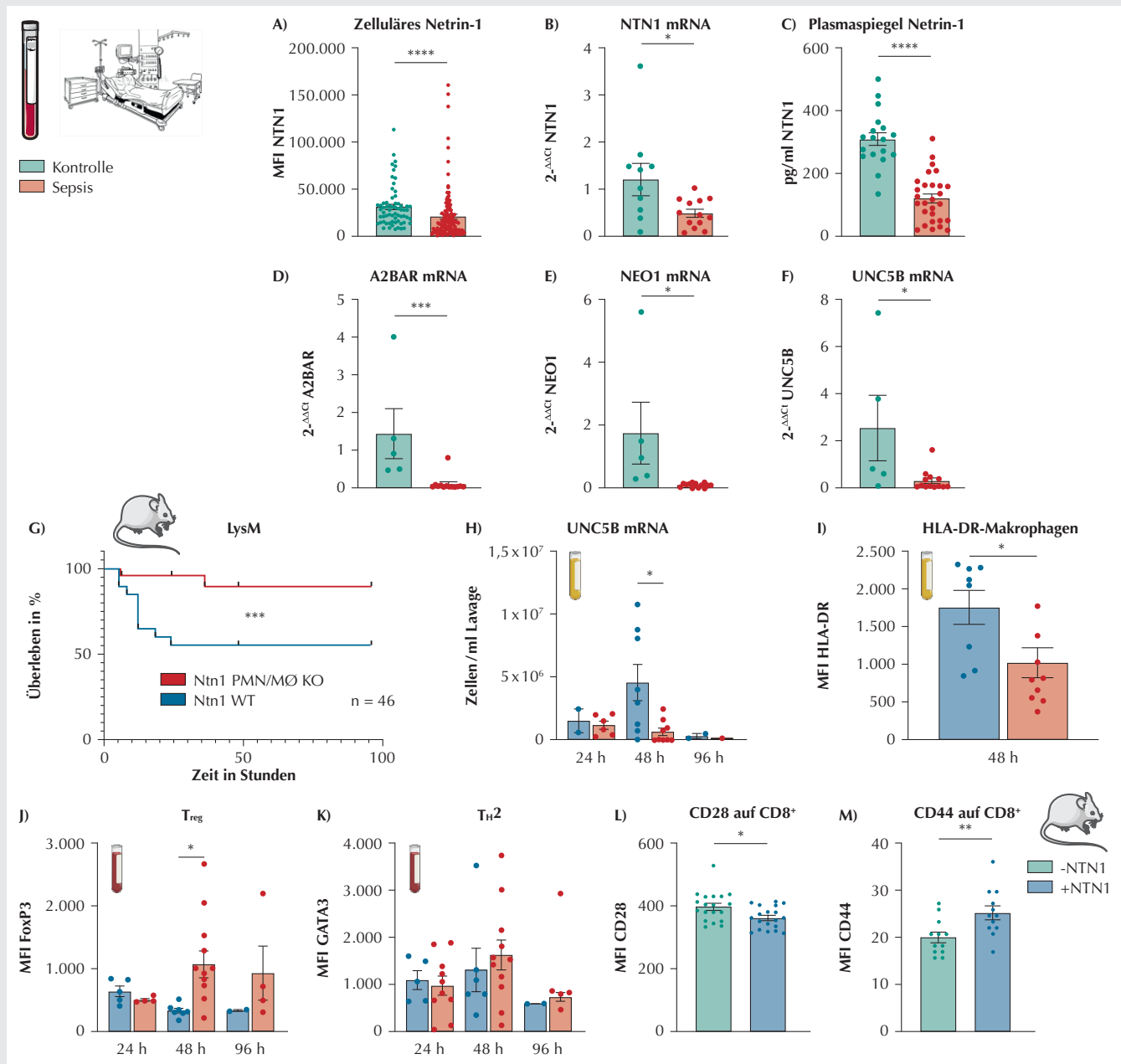
Netrin-1 ist ein neuronales Guidance-Protein, das nicht nur axonales Wachstum und neuronale Migration während der Entwick-

lung beeinflusst, sondern auch die Migration und Differenzierung von Immunzellen. In Modellen der sterilen akuten Entzündung (Hypoxie [1], Peritonitis [2] und Leber-/Ischämie-Reperfusion) vermindert die Gabe von

Netrin-1 nicht nur die akute Entzündungsreaktion, sondern fördert sogar deren Resolution. Da Netrin-1 die chronische Entzündung hingegen aufrechterhält [3], interessierte uns, ob und welchen Einfluss Netrin-1 auf die

Immundysregulation in der Frühphase der Sepsis hat. Dazu untersuchten wir die Regulation von Netrin-1 und seiner Rezeptoren im Verlauf bei septischen Intensivpatienten und die Veränderungen der Immunantwort

Abbildung 1



im CLP-Sepsis-Modell in Mäusen mit einem konditionellen gewebsspezifischen Netrin-1-Knockout.

Methoden

Nach Genehmigung durch die Ethikkommission München (249/20 S-EB) und schriftlichem Einverständnis wurden bei bisher 17 kritisch kranken Sepsispatienten und 8 gesunden Patienten zellspezifische Konzentrationen von Netrin-1 und seinen Rezeptoren während der Sepsis (d1, d3, d7) mittels Durchflusszytometrie und qRT-PCR analysiert. Bei Mäusen mit Monozyten- und Neutrophilen-spezifischem Netrin-1-Knockout ($Ntn1^{fl/fl}LysM^{CreERT2}$) wurde eine Sepsis durch Caecumligatur und -punktion (CLP) induziert (TVA: ROB-55.2,2532. Vet_02-21-206). Wir untersuchten zu den Zeitpunkten 12 h, 24 h, 48 h, 96 h nach Sepsisinduktion die Auswirkungen des Netrin-1-Knockouts auf das Überleben und die veränderten Immunantworten mittels Durchflusszytometrie (FACS). Für In-vitro-Versuche wurden aus EDTA-Blut von gesunden Freiwilligen und Wildtyp-Mäusen (WT) naive T-Zellen mittels immunomagnetischer Zellseparation gewonnen. Nach Stimulation mit Netrin-1 wurden Proliferation und veränderte Zelldifferenzierung durch FACS gemessen. Die statistische Analyse wurde nach Testung auf Normalverteilung (Shapiro-Wilk-Test) mittels Students-t-Test/Mann-Whitney-Test für 2 Gruppenvergleiche und mit Tukey-/Kruskal-Wallis-Test mit Dunns-Post-Test-Korrektur für Mehrfachtests durchgeführt.

Ergebnisse

In unserer Studie zeigte sich, dass bei Patienten mit Sepsis Netrin-1 auf Zell- (Abb. 1A) und Plasmaebene (Abb. 1B) und die Expression deren Rezeptoren Adora2b, Neogenin und Unc5b (Abb. 1D–F) herabreguliert waren. Interessanterweise führte der Knockout (KO) von Netrin-1 in polymorphkernigen Neutrophilen und Monozyten ($Ntn1^{fl/fl}LysM^{CreERT2}$) zu einer signifikanten Verbesserung des Überlebens (Abb. 1G), besonders in den ersten 24 Stunden nach Operation. Nach dem Netrin-1-KO wurde zudem eine reduzierte Anzahl von Leukozyten im Blut und in der Peritoneallavage beobachtet (Abb. 1H), ebenso eine veränderte Differenzierung (Abb. 1I). Weiterhin zeigte der Knockout von Netrin-1 eine Akkumulation von immunsuppressiven T_H2 - und T_{reg} -Zellen (Abb. 1J und 1K). Unsere In-vitro-Untersuchungen an murinen Zellen bestätigten, dass Netrin-1 die Differenzierung von CD4⁺- und CD8⁺-T-Zellen beeinflusst (Abb. 1L und 1M). Zusammenfassend zeigen diese Daten erstmalig, dass Netrin-1 in der Sepsis reguliert wird und im murinen Modell die Netrin-1-Expression mit einem schlechteren Outcome einhergeht. Dabei scheint Netrin-1 die Leukozytenmigration und Differenzierung zu beeinflussen.

Literatur

1. Rosenberger P, Schwab JM, Mirakaj V, Masekowsky E, Mager A, Morote-Garcia JC, et al: Hypoxia-inducible factor-dependent induction of netrin-1 dampens inflammation caused by hypoxia. *Nat Immunol* 2009;10:195–202
2. Mirakaj V, Dalli J, Granja T, Rosenberger P, Serhan CN: Vagus nerve controls resolution and pro-resolving mediators of inflammation. *J Exp Med* 2014;211:1037–1048
3. Schlegel M, Sharma M, Brown EJ, Newman AAC, Cyr Y, Afonso SM, et al: Silencing Myeloid Netrin-1 Induces Inflammation Resolution and Plaque Regression. *Circ Res* 2021;129:530–546.

Inflammation mit oxidativem Stress induziert eine mitochondriale Proteinimportstörung in einem Zellkulturmodell der Sepsis

P. Thon¹ · F. Zimmer¹ · A. Kobas² · J. Rassow² · I. Schmitz³ · R. Stoll⁴ · K. Rump¹ · D. Ziehe¹ · J. Peters⁵ · M. Adamzik¹ · B. Koos¹ · T. Rahmel¹

- 1 Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum Knappschaftskrankenhaus Bochum
- 2 Institut für Biochemie und Pathobiochemie, Medizinische Fakultät, Ruhr-Universität Bochum
- 3 Abteilung Molekulare Immunologie, Medizinische Fakultät, Ruhr-Universität Bochum
- 4 Institut für Biochemie II, Fakultät für Biochemie und Chemie, Ruhr-Universität Bochum
- 5 Privatperson

Korrespondenz: Patrick.Thon@rub.de

Fragestellung

Das Sepsis-assoziierte Organversagen wird durch eine mitochondriale Dysfunktion entscheidend mitbestimmt und ist u. a. durch verminderte oxidative Produktion von Adenosintriphosphat (ATP) und weniger mitochondriale DNA (mtDNA)-Kopien in Mitochondrien charakterisiert [1–3]. Mit Blick auf die Erholung nach einem septischen Insult spielt die mitochondriale Biogenese mit Neuproduktion von mtDNA und Regeneration oxidativer ATP-Produktion eine wichtige Rolle [3]. Allerdings scheint die mitochondriale Biogenese in der Sepsis gestört und es kommt in mononukleären Zellen des peripheren Blutes (peripheral blood mononuclear cells, PBMC) von Sepsis-Patienten zu einer intrazellulären Fehlverteilung von mitochondrialem Transkriptionsfaktor A (TFAM): Das prozessierte bzw. reife TFAM im Mitochondrium ist erniedrigt, während das nicht prozessierte prä-TFAM im Zytosol akkumuliert [1]. Daher testeten wir die These, dass dieser Fehlverteilung eine mi-

tochondriale TFAM-Importstörung zugrunde liegt. Gleichzeitig sollte die Frage beantwortet werden, ob eine Inflamationsreaktion allein ausreichend ist oder ein zusätzlicher Faktor wie mitochondrialer oxidativer Stress benötigt wird, um die Beobachtungen in PBMCs zu reproduzieren.

Methodik

Die humane Zelllinie A549 wurde mit Lipopolysaccharid (LPS) (10 µg/ml, Serotyp O55: B5, Sigma-Aldrich) und 1-Methyl-4-phenylpyridinium-Iodid (MPP⁺) (100 µM, Sigma-Aldrich) oder LPS plus MPP⁺ für 24 h bzw. 48 h inkubiert. MPP⁺ diente zur Induktion von mitochondrialem oxidativem Stress. Aus Lysaten der inkubierten Zellen erfolgte die Quantifizierung der zellulären mtDNA-Kopien und Genexpression der Zytokine IL6, IL8 und TNFα. Der zelluläre ATP-Gehalt relativ zu internen Kontrollen wurde mittels CellTiter-Glo[®] 2.0 Assays (Promega) bestimmt. Unmittelbar nach Inkubation wurden die Mitochondrien durch Saccharose-Dichtezentrifugation isoliert und in einem Import-Assay mit in vitro translatiertem, ³⁵S-Methionin-markiertem prä-TFAM inkubiert [2]. Nach elektrophoretischer Auftrennung der Proteine mittels BisTris-SDS-PAGE wurden die Gele getrocknet und mit Hilfe eines Phosphorimagers autoradiographisch detektiert.

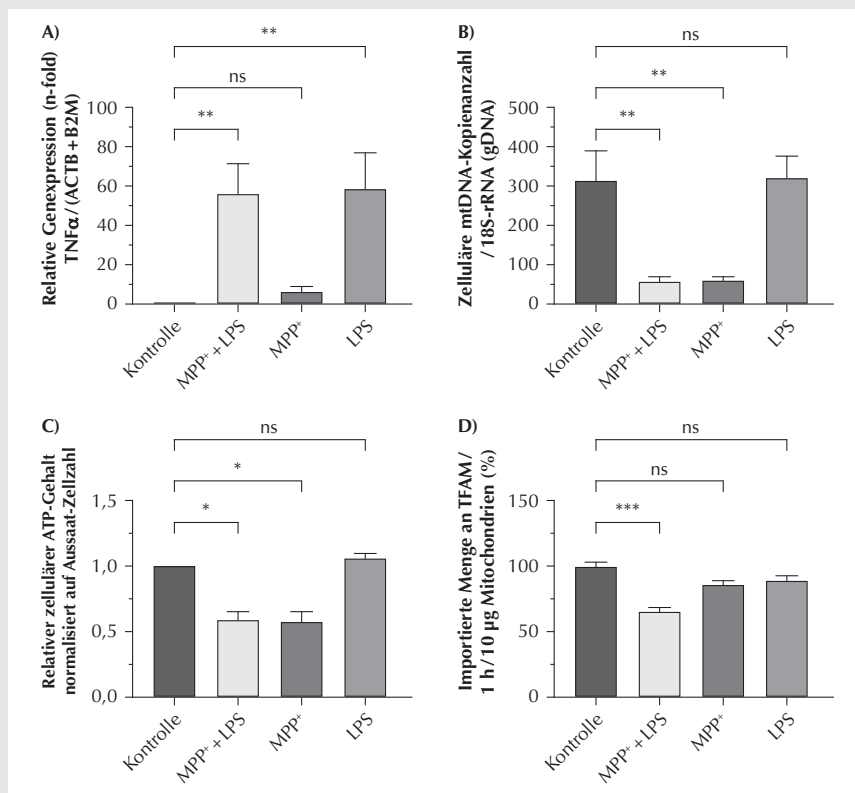
Ergebnisse

Unter LPS-Inkubation zeigte sich eine signifikante Zunahme der Genexpression von IL6, IL8 und TNFα, die unter MPP⁺ allein nicht nachweisbar war (Abb. 1A). Im Gegensatz dazu verringerte sich der Gehalt an zellulärer mtDNA ($p < 0,001$) und zellulärem ATP ($p < 0,05$) nur unter Inkubation mit MPP⁺ verglichen zur unstimulierten Kontrolle (Abb. 1B/C). Bei Kombination von LPS und MPP⁺ waren die Effekte vergleichbar zur jeweiligen Einzelinkubation im Hinblick auf Zytokine (nur LPS) und mtDNA/ATP (nur MPP⁺). Im ³⁵S-Import-Assay bewirkten LPS mit 88,83 % ± 3,84 (MW ± SEM) ($p = 0,589$) und MPP⁺ mit 85,88 % ± 2,98 ($p = 0,237$) keine signifikanten Auswirkungen auf den mitochondrialen TFAM-Import (Abb. 1D). Erst die kombinierte Inkubation mit beiden Substanzen zeigte eine signifikante Reduktion des mitochondrialen TFAM-Imports auf 65,55 % ± 2,42 ($p < 0,001$) der unstimulierten Kontrolle.

Schlussfolgerung

Wir konnten somit eine mitochondriale TFAM-Importstörung in einem humanen Zellkulturmodell der Sepsis nachweisen. Die alleinige LPS-induzierte Inflamationsreaktion war allerdings nicht in der Lage, eine signifikante Reduktion von mtDNA-Kopien und zellulärem ATP auszulösen als Surrogat einer mitochondrialen Dysfunktion. Darüber hin-

Abbildung 1

**Effekte von LPS und MPP+ auf die humane Zelllinie A549.**

A) Einfluss auf die TNF α mRNA-Expression (nach 24 h, n = 5). **B)** Einfluss auf die zelluläre mtDNA-Kopienanzahl (nach 48 h, n = 5). **C)** Einfluss auf den zellulären ATP-Gehalt (nach 48 h, n = 5). **D)** Einfluss auf den mitochondrialen TFAM-Proteinimport (nach 48 h, n = 9).

Statistik: MW \pm SEM, Shapiro-Wilk-Test, einfaktorierter ANOVA mit Dunnett's Test (Post-hoc) oder Kruskal-Wallis- mit Dunn's Test (Post-hoc); **ns:** nicht-signifikant, p < 0,05 (*), p < 0,01 (**), p < 0,001 (***)

aus waren sowohl eine LPS-induzierte Inflamationsreaktion als auch der MPP⁺-induzierte oxidative Stress einzeln nicht in der Lage, die für die Sepsis unterstellte mitochondriale TFAM-Importstörung zu induzieren, sondern erst die Kombination von beidem. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Kombination von LPS und MPP⁺ eine zusätzliche Signalkaskade auslöst bzw. verstärkt, wodurch sich dann eine mitochondriale TFAM-Importstörung ausbildet.

Literatur

1. Rahmel T, Marko B, Nowak H, Bergmann L, Thon P, Rump K, et al: Mitochondrial dysfunction in sepsis is associated with diminished intramitochondrial TFAM despite its increased cellular expression. *Sci Rep* 2020;10:21029
2. van der Slikke EC, Star BS, van Meurs M, Henning RH, Moser J, Bouma HR: Sepsis is associated with mitochondrial DNA damage and a reduced mitochondrial mass in the kidney of patients with sepsis-AKI. *Crit Care* 2021;25:36

3. Kraft BD, Chen L, Suliman HB, Piantadosi CA, Welty-Wolf KE: Peripheral blood mononuclear cells demonstrate mitochondrial damage clearance during sepsis. *Crit Care Med* 2019;47:651–658.

Die Hemmung der Indolamin-2,3-Dioxygenase-1 (IDO) in der murinen Endotoxinämie reduziert die Bildung des Vasodilatators Kynurenin

M. T. Voelker¹ · H. Banze¹ · A. Kaiser¹ · J. Bender¹ · K. I. Josy¹ · A. Böhme² · S. Trump³ · C. A. Opitz⁴ · S. N. Stehr¹ · R. Werdehausen¹ · V. Eulenburg^{1,5} · S. Laudt¹

- 1 Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie, Universitätsklinikum Leipzig
- 2 Department Exposure Science, Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung, Leipzig
- 3 Berliner Institut für Gesundheitsforschung in der Charité – Universitätsmedizin Berlin
- 4 Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ), Heidelberg, Abteilung Metabolischer Crosstalk bei Krebserkrankungen und das Deutsche Krebskonsortium (DKTK), DKFZ-Kernzentrum Heidelberg
- 5 Translationale Anästhesiologie und Intensivmedizin, Klinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin, Universitätsklinikum Augsburg

Korrespondenz:

theresa.voelker@uniklinik-leipzig.de

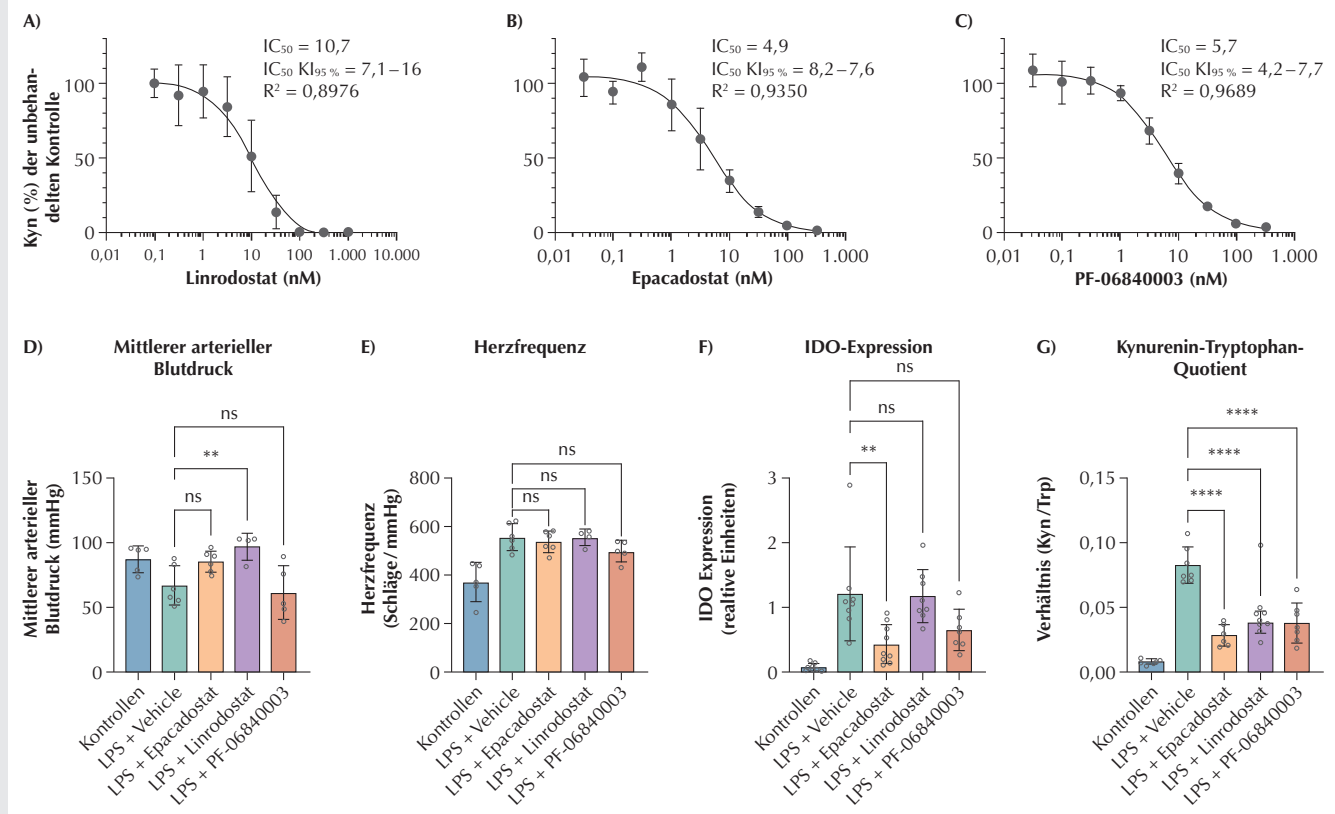
Fragestellung

Das Enzym Indolamin-2,3-Dioxygenase-1 (IDO) vermittelt den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt des Abbaus der Aminosäure Tryptophan zu Kynurenin. Im Zellkulturmodell konnten wir nachweisen, dass die IDO im arteriellen Endothel ausschließlich nach einem inflammatorischen Stimulus exprimiert wird [1]. Kynurenin ist ein systemischer Vasodilatator und in der Sepsis mit Hypotonie assoziiert [2]. Inhibitoren der IDO werden derzeit in der Tumortherapie zur Verringerung der Immunsuppression klinisch getestet [3]. Ziel dieser Arbeit ist die Evaluation einer pharmakologischen Hemmung der IDO zur Beeinflussung der Vasodilatation in der murinen Endotoxinämie als Modell der Sepsis.

Methodik

In einem ersten Schritt wurden die drei selektiven IDO-Inhibitoren Epacadostat (Epa), Linrodostat (Lin) und PF-06840003 (PF) in vitro auf ihre Effektivität getestet, die Bildung von Kynurenin in Interferon- γ (IFN- γ) stimulierten primären humanen Endothelzellen (Human Pulmonary Artery Endothelial Cells, HAPEC) zu hemmen. Nachfolgend wurden die Inhibitoren in der experimentellen Endotoxinämie der Maus evaluiert. Eine entsprechende Genehmigung der Versuche durch die Landesdirektion Sachsen lag vor (TVV 31/19). Die Versuchstiere erhielten Lipopolysaccharid (LPS; 15 μ g/kg) und jeweils einen der Inhibitoren oder das Vehikel als Kontrolle intraperitoneal. Nach 18 Stunden wurden die Tiere narkotisiert, beatmet und es wurde ein invasives hämodynamisches Monitoring etabliert.

Abbildung 1



A–C) Dosis-Wirkungs-Kurven für (A) Linrodoat, (B) Epacadoat und (C) PF-06840003. Stimulation humaner pulmonalerarterieller Endothelzellen (HPAEC) mit jeweils 50 ng/ml IFN- γ ($n = 6$ für Linrodoat und $n = 4$ jeweils für Epacadoat und PF-06840003).

D und E) Invasiv gemessener Mittlerer arterieller Blutdruck und Herzfrequenz der Tiere nach Etablierung der Messung (Vehicle und Epacadoat $n = 7$, Kontrollen, Linrodoat und PF-06840003 $n = 5$).

F) IDO-Expression im Ethern Blot; relative Einheiten (Linrodoat und Vehicle $n = 8$, Epacadoat $n = 9$, PF-06840003 $n = 7$) bezogen auf die Kontrollen ($n = 8$).

G) Kynurenin-Tryptophan-Quotient im Serum der Tiere zum Versuchsende (Kontrolle und Epacadoat $n = 6$, Vehicle und PF-06840003 $n = 7$, Linrodoat $n = 8$).

Anschließend wurden den Tieren Plasma und Lungengewebe entnommen. Die Konzentrationen unterschiedlicher inflammationsassoziiierter Zytokine wurde mittels fluoreszenz-kodiertem Multiplex Bead Assay (LEGEND-PLex; Biolegend) gemessen. Kynurenin und andere Metaboliten des Tryptophanabbauges im Plasma wurden durch Hochleistungs-flüssigchromatographie (HPLC) quantifiziert. Die Expression der IDO im Lungengewebe wurde mittels Western Blot analysiert. Für die statistische Analyse wurde eine Varianzanalyse (analysis of variance; ANOVA) mit Post-hoc-Test nach Holm-Sidak verwendet. Ergebnisse mit einem $p < 0,05$ wurden als signifikant angenommen.

Ergebnisse

In den In-vitro-Untersuchungen konnten wir eine monoton steigende Dosis-Wirkungs-Beziehung der drei IDO-Inhibitoren und der Suppression der durch IFN- γ induzierten

Kynureninproduktion nachweisen (mittlere inhibitorische Konzentration (IC_{50}) Lin 10,7 nM (95%-KI: 7,1–16,0 nM, R^2 : 0,898), Epa 4,9 nM (95%-KI: 3,2–7,6 nM, R^2 : 0,935), PF 5,7 μ M (95%-KI: 4,2–7,7 μ M, R^2 : 0,969; Abb. 1 A–C).

Nach Induktion der Endotoxinämie zeigten alle Tiere einen signifikanten Abfall des systemischen arteriellen Blutdrucks (MAD; 66 ± 15 vs. 86 ± 11 mmHg; $p = 0,03$; Abb. 1D) und eine erhöhte Herzfrequenz (551 ± 55 vs. 367 ± 81 Schläge/min; $p < 0,01$, Abb. 1E). Die Gabe von Epa (100 mg/kg) und Lin (10 mg/kg) konnte diesen Blutdruckabfall verhindern (MAD Epa: 85 ± 8 mmHg, MAD Lin: 96 ± 11 mmHg), PF (200 mg/kg) konnte diesen Effekt nicht erzielen. Die septischen Tiere zeigten eine deutliche Erhöhung der inflammationsassoziierten Zytokine IL-23, IL-1 β , IL-1 α , IFN- γ , MCP-1, IL-10, IL-6, GM-CSF, IL-27. Die IDO konnte im Lungengewebe gesunder Kontrolltiere kaum nachgewiesen

werden, wohingegen bei allen Tieren nach LPS-Applikation IDO detektierbar war (Abb. 1F). Die Konzentrationen von Kynurenin im Serum erkrankter Mäuse zeigte sich 10-fach erhöht und konnte durch alle drei Inhibitoren relevant reduziert werden (Epa: 3,4-fach, Lin: 4,7-fach, PF: 4,3-fach; $p < 0,01$; Abb. 1G).

Interpretation

Wir konnten zeigen, dass die IDO-vermittelte Bildung des Vasodilatators Kynurenin in Gefäßendothelzellen in vitro durch die IDO-Inhibitoren Epacadoat, Linrodoat und PF-06840003 vermindert werden kann. Die Verwendung dieser drei Inhibitoren in der Endotoxinämie der Maus konnte auch die Bildung von Kynurenin in vivo unterdrücken; Linrodoat und Epacadoat konnten dabei die Hypotonie in der Endotoxinämie relevant abmildern. Der Grund, warum PF-06840003 keine Auswirkungen auf den Blutdruck hatte, ist derzeit nicht bekannt und bedarf weiterer

Forschungsanstrengungen. Die Verwendung einesIDO-Inhibitors könnte daher zukünftig eine spezifische Therapieoption zur anti-vasodilatatorischen Therapie in der Sepsis darstellen.

Literatur

1. Völker MT, Bender J, Werdehausen R, Eulenburg V, Trump S, Stehr S et al: Inflammationsbedingte Induktion und pharmakologische Hemmung der Indolamindioxygenase (IDO) im Zellkulturmodell pulmonalarterieller Gefäßzellen. *Anästh Intensivmed* 2023;64:257–258
2. Changsirivathanamrong D, Wang Y, Rajbhandari D, Maghzal GJ, Mak WM, Woolfe C, et al: Tryptophan metabolism to kynurenine is a potential novel contributor to hypotension in human sepsis. *Crit Care Med* 2011;39:2678–2683
3. Fujiwara Y, Kato S, Nesline MK, Conroy JM, DePietro P, Pabla S, et al: Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) inhibitors and cancer immunotherapy. *Cancer Treat Rev* 2022;110:102461.

Effekt einer Dipeptidylpeptidase-4(DPP4)-Inhibition auf die vaskuläre Homöostase während systemischer Inflammation

C. Cursiefen¹ · K. Hellenthal² · L. Brabenc² · L. Cyran¹ · P. Meybohm¹ · N.-M. Wagner¹

- 1 Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum Würzburg
- 2 Klinik für Anästhesiologie, operative Intensivmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum Münster

Korrespondenz: wagner_n2@ukw.de

Fragestellung

Sepsis ist definiert als dysregulierte Immunantwort, welche mit Zytokinsturm, mikrovaskulärer Dysfunktion, Verlust der vaskulären Barriere und Ödembildung einhergeht [1]. Zahlreiche proinflammatorische Zytokine werden durch Abspaltung eines N-präterminalen Prolins durch die Dipeptidylpeptidase 4 (DPP4) in ihrer Aktivität moduliert [2,3]. Wir untersuchten, inwiefern eine DPP4-Inhibition während einer systemischen Inflammation die Immunantwort sowie die Sepsis-assoziierte vaskuläre Dysfunktion günstig beeinflussen könnte.

Methodik

Die Expression der DPP4 auf dem Endothel wurde mittels Durchflusszytometrie verifiziert. Die permeabilitätsinduzierende Wirkung verschiedener Zytokine auf eine Schicht humaner Endothelzellen wurde unter 2-stündiger

Vorinkubation mit 1 µg/ml des DPP4-Inhibitors Sitagliptin bzw. Lösungssubstanz im Permeabilitäts-Assay in vitro untersucht. Zur Induktion einer systemischen Inflammation im Kleintiermodell wurde in Mäusen nach entsprechender Genehmigung (RUF-55.2.2-2532-2-1822-16) mittels zökaler Ligatur und Punktion (CLP) eine polymikrobielle Sepsis induziert. Eine alleinige Laparotomie wurde als Kontrollbehandlung durchgeführt (Sham). Die Auswirkung einer Sitagliptinbehandlung (intravenöse Applikation von 5 mg/kg, unmittelbar nach Sepsisinduktion) bzw. Behandlung mit Lösungssubstanz allein (NaCl 0,9 %) wurde hinsichtlich der Anzahl der Leukozyten im Blut sowie des Einflusses auf die Ödembildung in murinem Darm und Lunge (Verhältnis Nass-/Trockengewebe) verglichen. Zur Untersuchung möglicher Einflüsse auf das Endothel wurden Endothelzellen aus murinen Lungen 18 Stunden nach Sepsisinduktion mittels Bead-gekoppelter Antikörper selektiert, die RNA isoliert und einer Sequenzierung zugeführt.

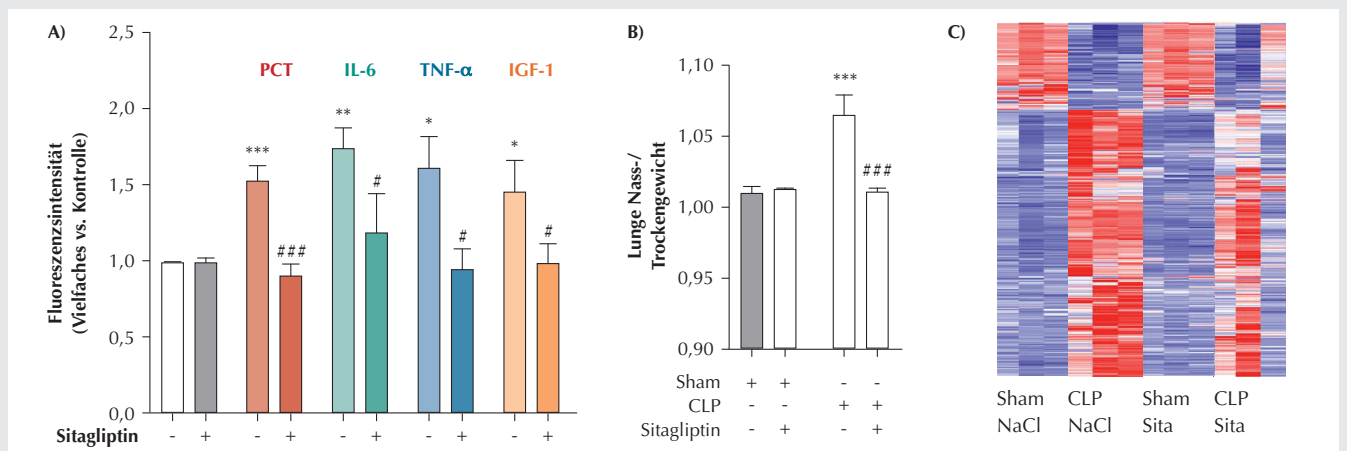
Statistik

One-way ANOVA/Bonferroni, Mittelwert/Standardabweichung, biometrische Analysen.

Ergebnisse

Eine Inhibition der auf den Endothelzellen exprimierten DPP4 führte zu einer Abschwächung der permeabilitätsinduzierenden Wirkung der DPP4-Substrate Procalcitonin (PCT), Interleukin-6 (IL-6), Tumornekrosefaktor alpha (TNFα) und Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) (P < 0,05–0,001, n = 8, Abb. 1A). In septi-

Abbildung 1



Effekt einer DPP4-Inhibition

- Permeabilitätsinduzierende Wirkung von 1 ng/ml Procalcitonin (PCT), 100 ng/ml Interleukin-6 (IL-6), 50 ng/ml Tumornekrosefaktor alpha (TNFα), 100 ng/ml Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) auf die Endothelzellschicht. *vs. Sitagliptin, #vs. Zytokin ohne Sitagliptin. Mittelwerte und Standardabweichung.
- Ödembildung in der murinen Lunge 18 Stunden nach Sepsisinduktion. *vs. Sham, # vs. CLP.
- Heatmap runter- (blau) bzw. hochregulierter Gene (rot) im murinen pulmonalen Endothel 18 Stunden nach Sepsisinduktion. Die Farbtintensität indiziert die Intensität der Regulation.

schen Mäusen führte eine Sitagliptinbehandlung zu einer Reduktion der Leukozyten im Blut ($1,64 \pm 0,1$ vs. $3,27 \pm 0,4 \times 10^3$ in kontrollbehandelten Mäusen, $P < 0,05$, $n = 9$) sowie zu einer reduzierten Ödembildung in der Lunge (Verhältnis Nass-/Trockengewicht; $1,01 \pm 0,0$ vs. $1,1 \pm 0,0$ in kontrollbehandelten Tieren, $P < 0,001$, $n = 6$, Abb. 1B). Während die Induktion einer Sepsis mit einer Induktion von über 4.500 Genen im pulmonalen Endothel der Mäuse einherging, war eine Behandlung mit Sitagliptin mit einer Reduktion der induzierten Gene auf unter 3.000 sowie einer deutlich reduzierten Hochregulation regulierter Gene assoziiert (Abb. 1C).

Schlussfolgerung

Die DPP4 ist in die Regulation der Wirkung proinflammatorischer Zytokine auf das Endothel involviert. Eine Inhibition der DPP4 durch klinisch zugelassene Wirkstoffe könnte eine neue Strategie zur Eindämmung der mit Sepsis einhergehenden überschießenden Immunantwort sein und eine Protektion des Gefäßsystems und von Organewebe zur Folge haben.

Literatur

1. Gotts JE, Matthay MA: Sepsis: pathophysiology and clinical management. *BMJ* 2016;353:i1585
2. Mulvihill EE, Drucker DJ: Pharmacology, physiology, and mechanisms of action of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *Endocr Rev* 2014;35:992–1019
3. Brabenec L, Müller M, Hellenthal KEM, Karsten OS, Pryvalov H, Otto M, et al: Targeting procalcitonin protects vascular barrier integrity. *Am J Respir Crit Care Med* 2022;206:488–500.

Die Proteininteraktion der mitochondrialen Transkriptionsfaktoren A und B2 in peripheren mononukleären Blutzellen ist mit dem 30-Tage-Überleben bei schwerer COVID-19-Erkrankung assoziiert

B. Westhus¹ · P. Thon¹ · K. Rump¹ · B. Koos¹ · C. Putensen² · S. Ehrentraut² · A. Zarbock³ · T. von Groote³ · D. Ziehe¹ · M. Adamzik¹ · T. Rahmel¹

für die Studiengruppe CovidDataNet.NRW

- 1 Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum Knappschaftskrankenhaus Bochum
- 2 Klinik für Anästhesiologie und Operative Intensivstation, Universitätsklinikum Bonn
- 3 Klinik für Anästhesiologie, operative Intensivmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum Münster

Korrespondenz: britta.marko@kk-bochum.de

Fragestellung

Eine schwere COVID-19-Erkrankung unterscheidet sich in ihrer immunologischen Ausprägung erheblich von einer bakteriellen Sepsis [1]. Dennoch wird die schwere COVID-19-Erkrankung aufgrund des klinischen Erscheinungsbildes zu dem pleiotropen Syndrom der Sepsis gezählt. Die Sepsis ist durch eine schwere Organdysfunktion mit mitochondrialer Dysfunktion charakterisiert. Dabei scheint insbesondere eine ineffiziente mitochondriale Biogenese mit der Sepsismortalität assoziiert zu sein [2]. Die Proteininteraktion der mitochondrialen Transkriptionsfaktoren A (TFAM) und B2 (TFB2M) ist bei einer bakteriellen Sepsis mit der mitochondrialen Biogenese und der Sepsismortalität assoziiert [3]. Unbekannt ist allerdings, ob sich diese Assoziation auch bei einer schweren COVID-19-Erkrankung nachweisen lässt. Daher wurde folgende Hypothese getestet: Eine hohe Anzahl an Proteininteraktionen von TFAM und TFB2M ist mit dem 30-Tage-Überleben bei Patienten mit schwerer COVID-19-Erkrankung assoziiert.

Methodik

In dieser multizentrischen, prospektiven Kohortenstudie (DRKS00026184/Ethikvotum: #5047-14) wurden 88 Patienten auf drei Intensivstationen eingeschlossen. Neben der Erhebung von klinischen Parametern wurden *in-vivo*-Messungen an isolierten peripheren mononukleären Blutzellen von COVID-19-Patienten mit septischem Verlaufsbild durchgeführt. Die Patienten wurden bezüglich der 30-Tages-Sterblichkeit unterteilt. Mithilfe eines Proximity-Ligation-Assays (PLA) konnten die Interaktionen zwischen TFAM und TFB2M quantifiziert werden. Der entsprechende Cut-off-Wert wurde mittels Youden-Index basie-

rend auf einer Receiver-Operating-Characteristic(ROC)-Kurve bestimmt. Ferner wurde die mRNA-Expression charakteristischer Effektoren der mitochondrialen Biogenese (MFN2, PINK, TFB2M, mitochondriale DNA) mittels quantitativer Polymerasekettenreaktion gemessen und anhand der $2^{-\Delta\Delta C_T}$ -Methode berechnet.

Ergebnisse

An Tag 1 konnten bei den überlebenden Patienten 44 % mehr Proteininteraktionen ($14,0 \pm 6,23$ Signale pro Zelle) im Vergleich zu den verstorbenen Patienten ($9,7 \pm 6,23$ Signale pro Zelle; $p = 0,001$) festgestellt werden. Mittels Youden-Index wurde ein Cut-off für die TFAM-TFB2M-Proteininteraktionen zur Diskriminierung einer hohen versus einer reduzierten mitochondrialen Biogenese an Tag 1 festgelegt. Entsprechend waren $>10,7$ PLA-Signale pro Zelle (hohe Aktivität) mit einem 30-Tage-Überleben von 74 % (37 von 50; Abb. 1) und $\leq 10,7$ PLA-Signale pro Zelle (reduzierte Aktivität) mit einem 30-Tage-Überleben von 32 % (12 von 38; $p < 0,001$) assoziiert. Eine multivariable COX-Regression konnte die TFAM-TFB2M-Proteininteraktion darüber hinaus als wichtigen und unabhängigen Einflussfaktor für das 30-Tage-Überleben bestätigen (HR 3,2; 95%-Konfidenzintervall: 1,6–6,5; $p < 0,001$). Eine erhöhte Anzahl an TFAM-TFB2M-Proteininteraktionen war mit einem 3-fach höheren Überleben assoziiert. Die mitochondrialen Marker auf mRNA-Ebene erwiesen sich nicht als prädiktiv für eine klinische Erholung.

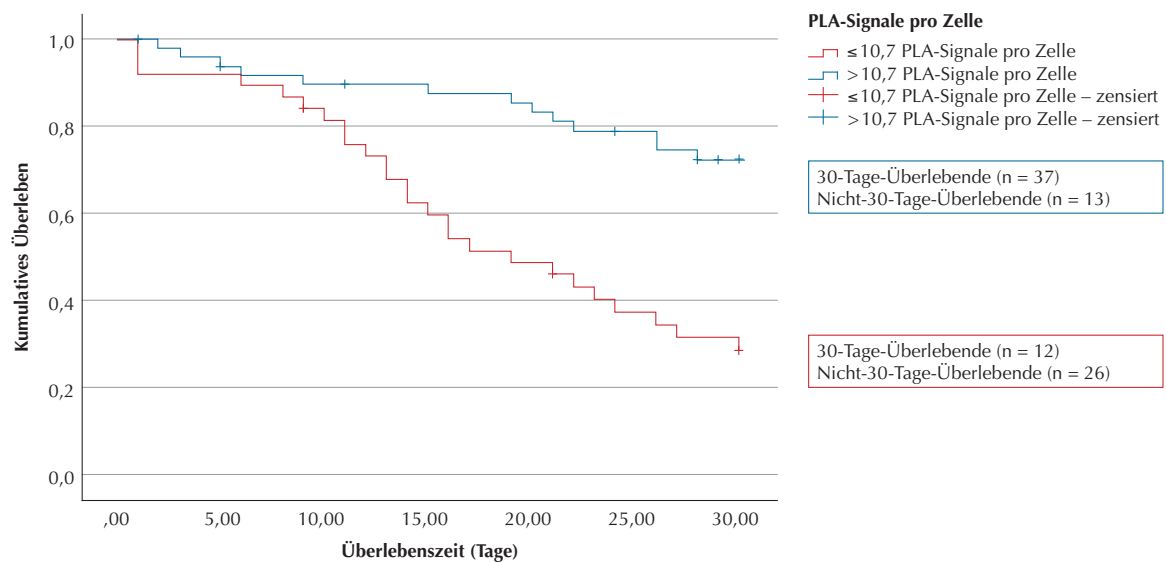
Diskussion

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die TFAM-TFB2M-Proteininteraktionen als neuer Biomarker nicht nur in der bakteriellen Sepsis mit der mitochondrialen Biogenese und dem Überleben assoziiert sind, sondern auch bei schwerer COVID-19-Erkrankung. Die Anzahl der Proteininteraktionen an Tag 1 konnte dabei als unabhängiger Risikofaktor für das 30-Tage-Überleben identifiziert werden. Unsere Daten lassen darüber hinaus den wichtigen Einfluss der mitochondrialen Biogenese auch bei schwerer COVID-19-Erkrankung vermuten.

Literatur

1. Dong X, Wang C, Liu X, Gao W, Bai X, Li Z: Lessons Learned Comparing Immune System Alterations of Bacterial Sepsis and SARS-CoV-2 Sepsis. *Front Immunol* 2020;11:598404
2. Singer M: The role of mitochondrial dysfunction in sepsis-induced multi-organ failure. *Virulence* 2014;5:66–72
3. Rahmel T, Marko B, Nowak H, Bergmann L, Thon P, Rump K, et al: Mitochondrial dysfunction in sepsis is associated with diminished intramitochondrial TFAM despite its increased cellular expression. *Sci Rep* 2020;10:21029.

Abbildung 1



30-Tage-Überleben in Patienten mit einer COVID-19-Erkrankung Die Kaplan-Meier-Analyse wurde verwendet, um die Wahrscheinlichkeiten des 30-Tage-Überlebens basierend auf der Anzahl der Proteininteraktionen von TFAM und TFB2M (= PLA Signale pro Zelle) an Tag 1 zu berechnen. Insgesamt wurden 88 Patienten analysiert und das Überleben mittels Log-Rank-(Mantel-Cox-)Test verglichen ($p < 0,001$).

Die Aktivierung des MAPK-Netzwerks bietet einen Überlebensvorteil in der Spätphase von COVID-19: Analyse einer multizentrischen COVID-19-Sepsis-Kohorte unter realen Bedingungen

A. Witowski¹ · L. Palmowski¹ · T. Rahmel¹ · H. Nowak^{1,2} · M. Adamzik¹ · B. Koos¹ · K. Rump¹ · B. Sitek¹ · T. Bracht¹ · M. Bayer¹ · D. Ziehe¹

- 1 Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie, Universitätsklinikum Knappschafts-Krankenhaus Bochum
- 2 Zentrum für Künstliche Intelligenz, Medizininformatik und Datenwissenschaften

Korrespondenz: Dominik.Ziehe@rub.de

Fragestellung

Studien haben gezeigt, dass das SARS-CoV-2-Virus das MAP(mitogen-activated protein)-Kinase-Netzwerk in der frühen Phase der Infektion transient aktiviert. Dazu wurde im Zellkulturmodell nachgewiesen, dass ein Erk1/2-Knockdown die Virusreplikation einschränkt [1]. Weitere Studien zeigten, dass Mitogen-aktivierte Proteinkinase-Kinasen (MEK)-Inhibitoren die virale Replikation von SARS-CoV2 und die anschließende Zytokin-freisetzung verringern können [2–5]. Die Frage, ob die ERK-Aktivierung in der späteren Phase der COVID-19-Erkrankung, in der das Virus eine Sepsis induziert, ebenfalls einen

prädiktiven Faktor besitzt, wurde bisher nicht untersucht [6,7]. Angesichts des schlechten Outcomes bei schwerkranken COVID-19-Patienten wäre die Inhibierung des MAPK-Netzwerks eine Chance für einen möglichen therapeutischen Ansatz. Daher haben wir die Hypothese aufgestellt, dass die Phosphorylierung von ERK als Marker für die Aktivität des MAPK-Netzwerks einen prädiktiven Wert in der COVID-19-Sepsis besitzt.

Methodik

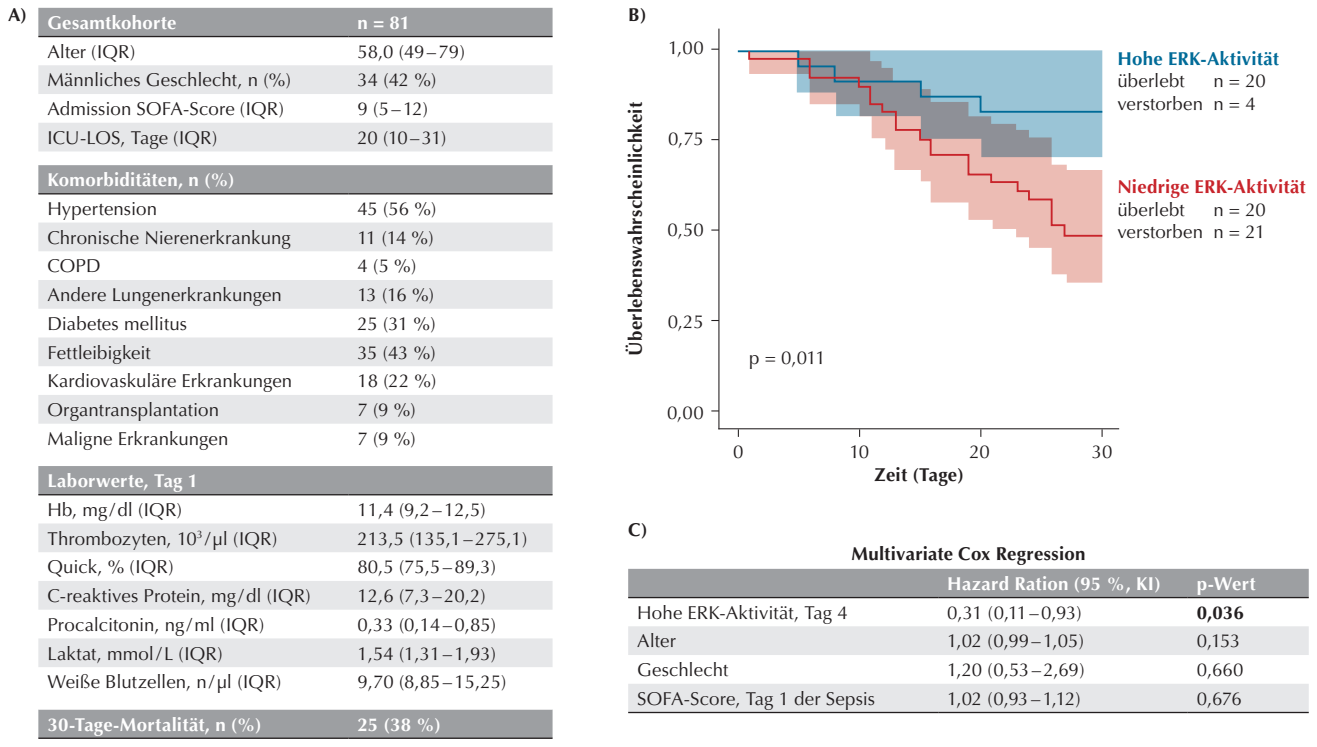
Um diese Hypothese zu testen, wurden prospektiv und multizentrisch 81 Patienten mit COVID-19-induzierter Sepsis (Sepsis-3) in den Jahren 2020 bis 2022 aus der CovidData-Net.NRW-Studie gemäß Ethikvotum (5047-14) eingeschlossen. Es folgte die Blutentnahme der Patienten an den Tagen 1 und 4 nach Aufnahme in die Studie. Aus den EDTA-stabilisierten Blutproben wurden mittels Ficoll-Dichtegradientenzentrifugation mononukleäre Zellen des peripheren Blutes (PBMC) isoliert. Anschließend folgte der Proximity Ligation Assay (PLA) zur Bestimmung des Phosphorylierungsgrads von ERK in PBMCs an den Tagen 1 und 4 wie zuvor beschrieben [7]. Im Blutserum wurden zusätzlich 13 COVID-19-relevante Zytokine an Tag 1 und Tag 4 mittels humanem LegendPlex-Assay gemessen. Des Weiteren wurden massenspektrometrische Analysen durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software R. Ein zweiseitiger p-Wert $< 0,05$ wurde als

statistisch signifikant angesehen. Die Konfidenzintervalle wurden mit einer Abdeckung von 95 % berechnet. Als primärer Endpunkt wurde das 30-Tage-Überleben definiert. Zunächst wurde eine Receiver-Operator-Characteristic(ROC)-Analyse durchgeführt, in welcher der Punkt der besten Diskriminierung (Youden-Index) identifiziert wurde. Um den Zusammenhang des Phosphorylierungsgrads von ERK und dem Überleben zu evaluieren, wurden anschließend Kaplan-Meier-Analysen und eine multivariable Cox-Regression durchgeführt.

Ergebnisse

Die Kohorte bestand aus 81 Patienten, von denen 34 männlichen Geschlechts (42 %) waren. Das Durchschnittsalter betrug 58 (± 15) Jahre. Der mediane SOFA-Score bei Studieneinschluss betrug 9 (IQR: 5–12). Die 30-Tage-Mortalitätsrate der gesamten Kohorte betrug 38 % (Abb. 1A). In der ROC-Analyse ergab sich für die Signale pro Zelle von pERK 0,51 als Punkt der besten Diskriminierung. Die Kaplan-Meier-Kurve (Abb. 1B) zeigt einen signifikanten Unterschied im Überleben in Abhängigkeit von der ERK-Aktivität an Tag 4 nach Sepsisdiagnose. So hatten Patienten mit verringerter ERK-Aktivierung ein 3-fach erhöhtes Sterberisiko ($p = 0,011$, HR: 0,27, 95%-KI: 0,09–0,79). Die Cox-Regressionsanalyse betrachtete neben der ERK-Aktivität am Tag 4 der Sepsis die Faktoren Alter, Geschlecht und SOFA-Score bei Beginn der Sepsis (Abb.

Abbildung 1



Einfluss des Phosphorylierungsgrads von ERK auf das 30-Tage-Überleben von septischen Patienten mit COVID-19-Infektion.

A) Basischarakteristika; **B)** Kaplan-Meier-Analyse (Tag 4): 20 von 24 Patienten mit erhöhter ERK-Aktivität überlebten (83,33 %), während nur 20 von 41 Patienten mit niedriger ERK-Aktivität überlebten (48, 78 %) (blaue Linie hohe ERK-Aktivität; rote Linie niedrige ERK-Aktivität); **C)** Multivariate Cox-Regression: Die ERK-Aktivität erwies sich als protektiver Faktor für das 30-Tage-Überleben mit einer Hazard Ratio von 0,31 (95%-KI: 0,11–0,93) und blieb der einzige statistisch signifikante Faktor ($p = 0,036$).

Erk: Extracellular-signal regulated kinases; **HR:** Hazard Ratio; **ICU-LOS:** Intensive care unit-length of stay; **IQR:** Interquartilsabstand.

1C). Hier erwies sich die ERK-Aktivität mit einer Hazard Ratio von 0,31 (95%-KI: 0,11–0,93) als protektiver Faktor für das 30-Tage-Überleben ($p = 0,036$). Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass die ERK-Aktivität im Durchschnitt bei den „Nicht Überlebenden“ abnimmt, während sie bei den „Überlebenden“ konstant bleibt. Dies führte zu einem signifikanten Unterschied in der ERK-Aktivität an Tag 4 zwischen den Überlebenden und den Verstorbenen ($p = 0,011$).

Schlussfolgerung

Eine hohe Aktivität des MAPK-Netzwerks in der COVID-19-Sepsis ist ein protektiver Faktor für das 30-Tage-Überleben und könnte auf eine Erholung des Immunsystems hinweisen. Aufgrund dieser Daten scheint die pharmakologische Inhibierung von MEK in der COVID-19-Sepsis nicht sinnvoll zu sein. Weitere Studien sind erforderlich, um diese Ergebnisse zu bestätigen.

Literatur

- Schreiber A, Viemann D, Schöning J, Schloer S, Mecate Zambrano A, Brunotte L, et al: The MEK1/2-inhibitor ATR-002 efficiently blocks SARS-CoV-2 propagation and alleviates pro-inflammatory cytokine/chemokine responses. *Cell Mol Life Sci* 2022;79:65
- Ludwig S, Pleschka S, Planz O: MEK inhibitors as novel host-targeted antivirals with a dual-benefit mode of action against hyperinflammatory respiratory viral diseases. *Curr Opin Virol*, 2023;59:101304
- Cusato J, Manca A, Palermi A, Mula J, Costanzo M, Antonucci M, et al: COVID-19: A Possible Contribution of the MAPK Pathway. *Biomedicines* 2023;11:1459
- Montazersaheb S, Hosseiniyan Khabtibi SM, Hejazi MS, Tarhriz V, Farjami A, Ghasemian Sorbeni F, et al: COVID-19 infection: an overview on cytokine storm and related interventions. *Virol J* 2022;19:92
- Xie J, Klemsz MJ, Kacena MA, Sandusky G, Zhang X, Kaplan MH: Inhibition of MEK signaling prevents SARS-CoV2-induced lung damage and improves the survival of infected mice. *J Med Virol* 2022;94(12):6097–6102
- Forsyth CB, Zhang L, Bhushan A, Swanson B, Zhang L, Mamede JI, et al: The SARS-CoV-2 S1 Spike Protein Promotes MAPK and NF- κ B Activation in Human Lung Cells and Inflammatory Cytokine Production in Human Lung and Intestinal Epithelial Cells. *Microorganisms* 2022;10:1996
- Klaesson A, Grannas K, Ebai T, Heldin J, Koos B, Leino M, et al: Improved efficiency of in situ protein analysis by proximity ligation using UnFold probes. *Sci Rep* 2018;8:540.