

**Aus der Klinik für Anästhesiologie**

**der Universität zu Lübeck**

**Direktor: Prof. Dr. med. Peter Schmucker**

**Pulmonale und systemische Effekte differenzierter  
Beatmungsstrategien bei lungengesunden und ALI/ARDS  
Patienten**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der Universität zu Lübeck

Aus der Medizinischen Fakultät

vorgelegt von

Alexandra Lange

aus Lübeck

Lübeck 2008

**1. Berichterstatterin:**

Prof. Dr. med. Cordula Stamme

**2. Berichterstatter:**

Prof. Dr. med. Hasib Djonlagic

**Vorsitz:**

Prof. Dr. med. Thomas Kurz

Tag der mündlichen Prüfung:

13. September 2012

zum Druck genehmigt. Lübeck, den 13.09.2012

- Promotionskommission der Sektion Medizin -

“The lung can be regarded as a collection of 300 million bubbles, each 0.3 mm in diameter. Such a structure is inherently unstable”

John B. West

---

<b>Inhaltsverzeichnis</b>	<b>I</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>IV</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>V</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>VI</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1 Das humane Alveolarsystem	3
1.2 Protektive Beatmung des lungengesunden Patienten	5
1.3 Acute Lung Injury (ALI)/Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS)	6
1.3.1 Epidemiologie	7
1.3.2 Definition	7
1.3.3 Ätiologie	7
1.3.4 Pathogenese und Inflammation	8
1.4 Beatmungsstrategien	10
1.4.1 Protektive Beatmung	11
1.4.2 Positiver endexpiratorischer Beatmungsdruck (PEEP)	11
1.4.3 Low-Tidal-Volume (LTV) Beatmung	11
1.4.4 Rekrutierungsmanöver und Open-Lung-Concept (OLC)	11
1.4.5 Alternative Beatmungstherapien	12
1.5 Ziele und Fragestellungen	12
1.5.1 Effekt der mechanischen Ventilation mit ZEEP <i>versus</i> PEEP auf die pulmonale Inflammation lungengesunder Patienten	12
1.5.2 Effekt der mechanischen Ventilation nach dem OLC auf die pulmonale Inflammation bei ALI/ARDS Patienten	12
<b>2 Material und Methoden</b>	<b>13</b>
2.1 Material	13
2.1.1 Geräte und Zubehör	13
2.1.2 Kits und Medien	14
2.1.3 Reagenzien und Chemikalien	14
2.1.4 Puffer und Lösungen	15
2.2 Methoden	18
2.2.1 Studienkonzepte, Studiendesign	18
2.2.1.1 Effekt der mechanischen Ventilation mit ZEEP <i>versus</i> PEEP auf die pulmonale Inflammation lungengesunder Patienten	18

---

2.2.1.2	Patientenauswahl und Einschlusskriterien	18
2.2.2	Effekt der mechanischen Ventilation nach dem OLC auf die pulmonale Inflammation bei ALI/ARDS Patienten	19
2.2.2.1	Patientenauswahl und Einschlusskriterien	19
2.2.2.2	Beatmungsprotokolle	20
2.2.2.3	Acute physiology and chronic health evaluation (APACHE) -II-Score und Lung-Injury-Score (LIS)	21
2.2.3	Bronchoalveoläre Lavage (BAL)	22
2.2.3.1	Zellzahl- und Vitalitätsbestimmung	22
2.2.3.2	Zelldifferenzierung	23
2.2.3.3	Kultur und Stimulation alveolärer Zellen	23
2.2.3.4	Nuklearextraktion	23
2.2.3.5	Bicinchoninic acid (BCA)-Protein Assay	24
2.2.4	Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)	24
2.2.5	DNA-Markierung und Electrophoretic mobility shift assay (EMSA)	25
2.2.6	Verarbeitung der Blutproben	26
2.3	Statistik	26
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>27</b>
<b>3.1</b>	<b>Effekt der mechanischen Ventilation mit ZEEP versus PEEP auf die pulmonale Inflammation lungengesunder Patienten</b>	<b>27</b>
3.1.1	Demographische und klinische Patientendaten	27
3.1.2	BAL Differenzialzytologie	28
3.1.3	DNA-Bindungsaktivität von NF- $\kappa$ B in Alveolarmakrophagen	29
<b>3.2</b>	<b>Effekt der mechanischen Beatmung nach dem OLC auf die systemische und pulmonale Inflammation bei ALI/ARDS Patienten</b>	<b>30</b>
3.2.1	Demographische und klinische Patientendaten	30
3.2.2	APACHE-II-Score	31
3.2.3	LIS, Ventilations- und Gasaustauschparameter	33
3.2.4	Hämodynamikparameter	36
3.2.5	BAL Differenzialzytologie	37
3.2.6	Pulmonales und systemisches Zytokinprofil	40
3.2.7	DNA-Bindungsaktivität von NF- $\kappa$ B in alveolären Zellen	44

---

<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>45</b>
4.1	Effekt der mechanischen Ventilation mit ZEEP <i>versus</i> PEEP auf die pulmonale Inflammation lungengesunder Patienten	45
4.2	Effekt der mechanischen Ventilation nach dem OLC auf die pulmonale und systemische Inflammation bei ALI/ARDS Patienten	47
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>51</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>52</b>
<b>7</b>	<b>Danksagung</b>	<b>69</b>
<b>8</b>	<b>Publikationen</b>	<b>70</b>
<b>9</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>71</b>

**Abbildungsverzeichnis**

- Abb. 1 Proximale und distale Atemwege
- Abb. 2 Physiologie und Pathophysiologie der Alveole
- Abb. 3 DNA-Bindungsaktivität von NF- $\kappa$ B in Alveolarmakrophagen ZEEP- vs PEEP beatmeter lungengesunder Patienten
- Abb. 4 APACHE-II-Score bei LV- vs. LV/OLC-beatmeten ALI/ARDS Patienten
- Abb. 5 Lung-Injury-Score bei LV- vs. LV/OLC-beatmeten ALI/ARDS Patienten
- Abb. 6 PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> (A) und PEEP (B) bei LV- vs. LV/OLC-beatmeten ALI/ARDS Patienten
- Abb. 7 V<sub>T</sub> (A), AF (B) und PIP (C) bei LV- vs. LV/OLC-beatmeten ALI/ARDS Patienten
- Abb. 8 MAP(A) und HF (B) bei LV- vs. LV/OLC- beatmeten ALI/ARDS Patienten
- Abb. 9 BAL Recovery (A) und Differenzialzytologie (B, C) bei LV- vs. LV/OLC-beatmeten ALI/ARDS Patienten
- Abb. 10 IL-6 bei LV- vs. LV/OLC- beatmeten ALI/ARDS Patienten
- Abb. 11 IL-8 bei LV- vs. LV/OLC- beatmeten ALI/ARDS Patienten
- Abb. 12 TNF- $\alpha$  bei LV- vs. LV/OLC- beatmeten ALI/ARDS Patienten
- Abb. 13 DNA-Bindungsaktivität von NF- $\kappa$ B in alveolären Zellen  
LV- vs. LV/OLC-beatmeter ALI/ARDS Patienten

**Tabellenverzeichnis**

- Tabelle 1      Demographische und klinische Daten ZEEP- vs PEEP- beatmeter lungengesunder Patienten
- Tabelle 2      BAL Recovery, Gesamt- und Differenzialzytologie ZEEP- vs PEEP- beatmeter lungengesunder Patienten
- Tabelle 3      Demographische und klinische Daten LV- vs. LV/OLC-beatmeter ALI/ARDS Patienten
- Tabelle 4      Klinische Aufnahmediagnosen



**Abkürzungsverzeichnis**

°C	Grad Celsius
cm H <sub>2</sub> O	cm Wassersäule
Abb	Abbildung
AF	Atemfrequenz
ALI	Acute Lung Injury
AK	Antikörper
AM	Alveolarmakrophage
AMV	Atemminutenvolumen
APACHE II	Acute physiology and chronic health evaluation II Score
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
ASA	American Society of Anesthesiologists
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BGA	Blutgasanalyse
BMI	body mass index
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EMSA	Electrophoretic Mobility Shift Assay
FCS	fötales Kälberserum
FiO <sub>2</sub>	Fraction of inspired oxygen
h	Stunde
HF	Herzfrequenz
IL	Interleukin
kD	Kilodalton
LPS	Lipopolysaccharid
min	Minute
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
MAP	arterieller Mitteldruck
MW	Mittelwert
NF-κB	Nuclear Factor κB
OLC	Open Lung Concept
PaCO <sub>2</sub>	arterieller Kohlendioxidpartialdruck
PaO <sub>2</sub>	arterieller Sauerstoffpartialdruck
PBS	phosphate buffered saline
PEEP	positive end-expiratory pressure

---

PIP	positive inspiratory pressure
RPMI	Roswell Park Memorial Institute, chemisch definiertes Zellkulturmedium
RT	Raumtemperatur
sec	Sekunde
Tab	Tabelle
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor- $\alpha$
V <sub>T</sub>	Tidalvolumen
ZEEP	zero end-expiratory pressure

### 1 Einleitung

Die Lunge hat die zentrale Aufgabe des Gasaustausches von Sauerstoff (O<sub>2</sub>) und Kohlendioxid (CO<sub>2</sub>) und gewährleistet damit das Prinzip der aeroben Oxidation des menschlichen Organismus. Ein Ausfall dieser Funktion und der damit einhergehenden respiratorischen Insuffizienz erzwingt den Einsatz einer kontrollierten maschinellen Beatmung. Medizinisch induziert ist diese Situation durch Muskelrelaxierung im Rahmen der Narkoseführung für operative Eingriffe. Die kontrollierte maschinelle Beatmung kann daher, je nach klinischer Situation, kurzfristig (Minuten bis Stunden im Rahmen einer Operation) oder prolongiert (mehrere Wochen im Rahmen eines Lungenausfalls) indiziert sein. Wie jeder Eingriff in den natürlichen Ablauf der Körperfunktionen, hat auch die künstliche Beatmung inhärente Risiken. So wird zum Beispiel durch die endotracheale Intubation der natürliche Schutz gegen die Besiedlung der Atemwege durch ortsfremde Keime ausgeschaltet. Darüber hinaus stellt die mechanische Beatmung *per se* ein Risiko für die Entstehung einer ventilatorinduzierten oder ventilatorassoziierten Lungenschädigung dar, die sich in einer pro-inflammatorischen Reaktion der Lunge manifestiert (27; 72; 84). Besonders beim akuten Lungenversagen (Acute Respiratory Distress Syndrome, ARDS), führt die mechanische Beatmung sowohl durch die Überdehnung der Lunge, als auch durch vermehrte Scherkräfte zu einer gesteigerten inflammatorischen Antwort (77). Basierend auf den Erkenntnissen beatmungsinduzierter Lungenpathophysiologie entwickelte sich in den vergangenen Jahren ein grundsätzlicher Paradigmenwechsel in der klinischen Anwendungsstrategie maschineller Beatmung von ARDS Patienten. Das Konzept der lungenprotektiven Beatmung umfasst die Vermeidung von ventilator-assoziiertem Baro-, Volu-, Atelekto- und Biotrauma sowie die Reduktion unerwünschter hämodynamischer Nebenwirkungen. Die Applikation eines positiven endexpiratorischen Beatmungsdruckes (PEEP) sowie die Wahl kleiner Atemzugvolumina sind die therapeutischen Eckpfeiler dieses Konzeptes (1). Darüberhinaus stellt das repetitive Rekrutieren atelektatischer Lungenbezirke eine vielversprechende therapeutische Option dar.

Die Höhe des eingestellten PEEP sowohl bei Lungengesunden als auch bei ARDS Patienten ist ein vieldiskutierter Aspekt maschineller Beatmung. Die Empfehlungen für einen optimalen PEEP bei lungengesunden Patienten im Rahmen elektiver chirurgischer Maßnahmen sind nicht eindeutig (91).

Die vorliegende Arbeit untersucht die Effekte unterschiedlicher Beatmungsstrategien auf die Stärke der pulmonalen und systemischen inflammatorischen Immunantwort von Patienten mit unterschiedlicher pulmonaler Prädisposition. Im Studienkollektiv

lungengesunder Patienten, die sich einem operativen Elektiveingriff unterzogen, wurden die Effekte von PEEP- vs. ZEEP-Beatmung auf die Aktivierung des zentralen Transkriptionsfaktors NF- $\kappa$ B in Alveolarmakrophagen verglichen.

Im Studienkollektiv schwerkranker Intensivpatienten mit ALI/ARDS wurden die Effekte einer zeitgesteuerten und druckkontrollierten Beatmung mit niedrigen Tidalvolumina einer Strategie gegenübergestellt, die zuzüglich eine intermittierende Alveolarrekrutierung nach dem Open-Lung-Concept (OLC) umfasste. Über einen Zeitraum von drei Tagen wurde als Klassifikationssystem zur quantitativen Beurteilung des Erkrankungsschweregrades und der individuellen Prognose der Patienten der APACHE-II-Score, der Lung-Injury-Score, Ventilations-, Gasaustausch-, und Hämodynamikparameter, pulmonale und systemische Zytokinprofile, sowie die Aktivierung von NF- $\kappa$ B in alveolären Zellen vergleichend analysiert.

### 1.1 Das humane Alveolarsystem

Die äußere Atmung des Menschen dient der Sauerstoffaufnahme und der Kohlendioxidabgabe. Der Aufbau der Lunge ist unterteilt in das luftleitende System und das Alveolarsystem, das mit einer Gesamtfläche von ungefähr  $120 \text{ m}^2$  bei der Inspiration und  $80 \text{ m}^2$  bei der Expiration die größte Fläche des Organismus bildet, die mit der Außenwelt in direktem Kontakt steht. Jeder Atemzug befördert unzählige Pathogene, Schadstoffe und Allergene über das respiratorische Epithel. Die meisten der inhalierten Organismen werden an der Mucus-Schicht festgehalten, zum Pharynx transportiert und dort verschluckt. In den oberen Atemwegen werden tracheale und bronchiale Sekretionen von Epithelzellen, insbesondere von Becherzellen und Submucosazellen hergestellt (Abb. 1).

Zwei Epithelzelltypen, Typ-I- und Typ-II-Pneumozyten, kleiden die Alveolen gleichmäßig aus (Abb.1). Typ-I-Pneumozyten (Deckzellen) bedecken ungefähr 90 - 95% der Alveolaroberfläche, liegen der Basalmembran an und bilden mit dieser und dem Kapillarendothel die Barriere für den Gasaustausch. Typ-I-Pneumozyten sind gekennzeichnet durch einen flach ausgebreiteten, organellenarmen Zytoplasmaleib. Die kubischen, organellenreichen Typ-II-Pneumozyten bedecken 5 - 10% der Alveolaroberfläche, liegen der Basalmembran auf und besitzen als charakteristische Organelle die Lamellarkörperchen, die Speicher- und Sekretionsorganelle von pulmonalem Surfactant. Surfactant ist ein Gemisch aus Phospholipiden (90%) und Proteinen (10%), der als dünner Film die luminalen Alveolen auskleidet, über seinen Phospholipidanteil die Oberflächenspannung herabsetzt und damit physiologisches Atmen ermöglicht. Alveolen haben einen Durchmesser zwischen 0.1 und 0.3 mm und sind eng mit dem Kapillarsystem der Lunge verbunden. Ihre Basalmembran ist mit der des Kapillarsystems zum Großteil verbunden und ermöglicht damit den Übertritt des in der Atemluft befindlichen Sauerstoffs in die Kapillargefäße und die Abgabe des Kohlendioxids aus dem Blut in die Lunge. Die Wände der Alveolen sind 0.3 - 0.7 mm dünn und ermöglichen somit einen leichten Gastaustausch mit dem dichten Netz der Lungenkapillaren.

Unter physiologischen Bedingungen sind Alveolarmakrophagen, i.e., differenzierte, in das Lungengewebe eingewanderte Monozyten, der dominante alveoläre Zelltypus. Alveolarmakrophagen sind professionelle Phagozyten, die über ihre immunmodulatorischen Fähigkeiten zentral an der Aufrechterhaltung der Lungenhomöostase beteiligt sind.

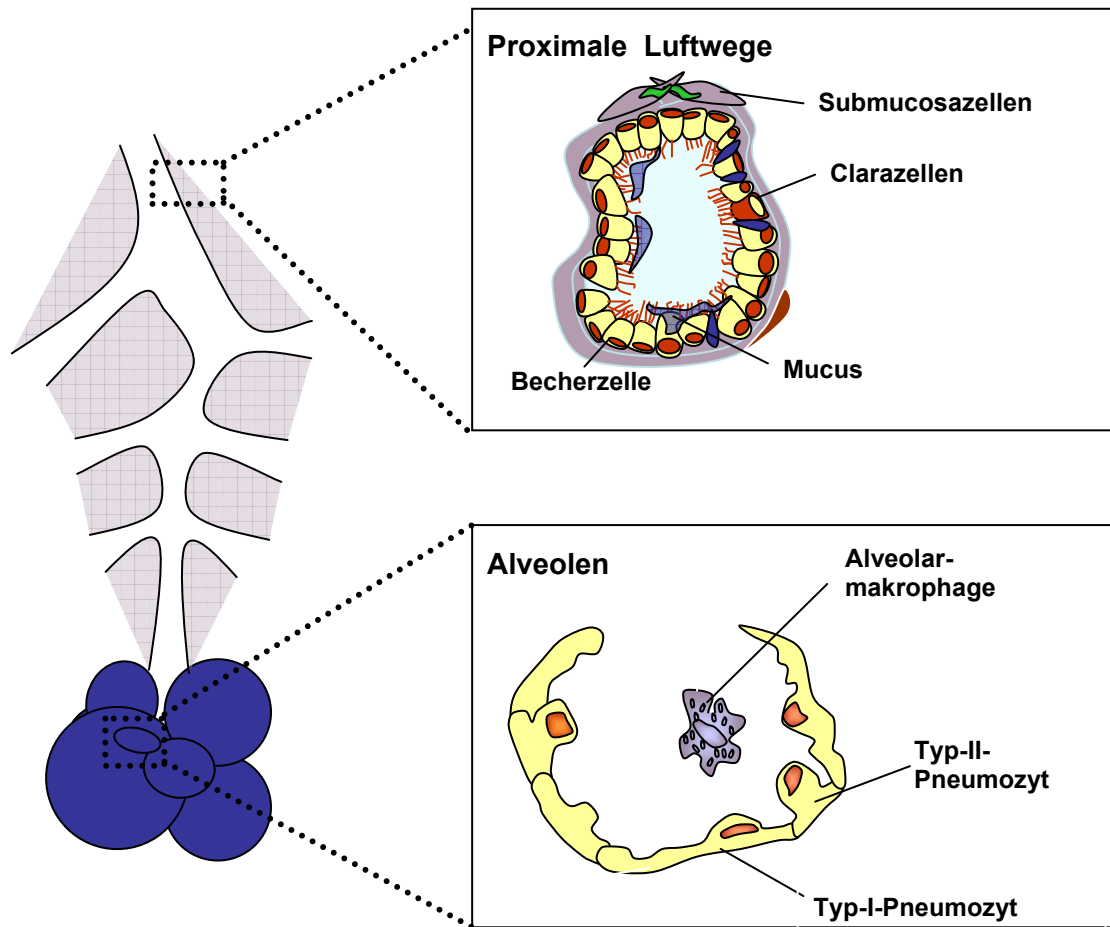


Abb. 1 Proximale und distale Atemwege

## 1.2 Protektive Beatmung des lungengesunden Patienten

Die meisten klinischen Untersuchungen zu den Effekten protektiver Beatmungsstrategien wurden an schwer lungenkranken Patienten durchgeführt. In der klinischen Routine bilden jedoch lungengesunde Patienten, die im Rahmen eines operativen Eingriffes vorübergehend maschinell beatmet werden, das alltägliche Patientenkollektiv. Über die funktionellen Konsequenzen des durch Beatmung induzierten mechanischen Stresses bei diesen Patienten ist nur wenig bekannt. Man weiß allerdings seit langem, dass narkotisierte Patienten Ventilationsstörungen entwickeln (12), die noch in der postoperativen Phase einen Abfall der funktionellen Residualkapazität mit einhergehender Oxygenierungsstörung nach sich ziehen können (68). Eine zentrale Ursache dieser pathophysiologischen Veränderungen ist die Entstehung von Atelektasen (16), die sowohl bei inhalativen als auch bei intravenösen Allgemeinanästhesien in 90% der Fälle auftreten. Das Entstehen dieser Atelektasen ist weder an die Gabe eines Muskelrelaxans gekoppelt, noch davon abhängig, ob der Patient spontan atmet oder kontrolliert beatmet wird (54). Abhängig vom Pathomechanismus werden Kompressionsatelektasen, Resorptionsatelektasen und Surfactantmangel-Atelektasen unterschieden (55). Unter Allgemeinanästhesie und der Gabe von Muskelrelaxanzien sinkt der Tonus von Diaphragma und Interkostalmuskulatur, der Druck der Bauchorgane überwiegt, so dass sich der Abdominalraum nach kranial verlagert. Dies führt zu einer Verkleinerung des Thorakalraums mit einem Druckanstieg im Pleuraspalt. Das angrenzende Lungengewebe wird zusammengedrängt und Alveolen, vor allem in den abhängigen Lungenpartien, kollabieren. Es kommt zu Kompressionsatelektasen. Resorptionsatelektasen ihrerseits können zum einen durch den Verschluss von Bronchiolen auftreten. Zu Beginn der Narkose steigt der intrapleurale und intrapulmonale Druck. Es entsteht ein Ungleichgewicht zwischen Ventilation (vermehrt ventral) und Perfusion (vermehrt dorsal). Die Compliance nimmt ab. Es kommt zur Abnahme der funktionellen Residualkapazität. Der Verschluss von kleinen Atemwegen in der Expiration und Atelektasen nehmen zu. Der Sauerstoff in den geschlossenen Arealen wird allmählich ins Blut resorbiert. Wenn die Extraktion von  $O_2$  aus dem Alveolarlumen den Nettoeinstrom von Gas übersteigt, kollabieren die Alveolen.

Zum anderen können Resorptionsatelektasen auch ohne Verschluss von Atemwegen zustande kommen. Bei während der Narkose erhöhter inspiratorischer Sauerstoffkonzentration ( $FiO_2$ ) steigt der Sauerstoffpartialdruck in der Alveole bezogen auf die Kapillare. Damit vergrößert sich der Sauerstoffgradient auch in minderperfundierte Gebiete. Sauerstoff diffundiert schneller aus der Alveole in die

Kapillare. Der Anteil an Stickstoff, der in den Alveolen verbleibt und diese offen hält, verringert sich. Dieser Effekt kann so ausgeprägt sein, dass diese Lungenabschnitte kollabieren. Die Höhe der  $\text{FiO}_2$  beeinflusst dabei direkt die Ausprägung der Atelektasen.

Überdruckbeatmung mit hohen Tidalvolumina scheinen einen höheren Verbrauch an Surfactant zu bewirken. Bereits kollabierte Lungenbereiche produzieren ihrerseits weniger neuen Surfactant und fördern damit einen fortschreitenden Kollaps (55). Lachmann postulierte 1992 mit der Beatmungsstrategie „open the lung and keep the lung open“ den Zielgedanken, atelektatische Lungebezirke durch Erhöhung des Atemwegsspitzen drucks aktiv zu öffnen, um sie daran anschließend mittels ausreichendem PEEP offen zu halten (50).

Die Höhe des eingestellten PEEP ist ein vieldiskutierter Aspekt maschineller Beatmung. Die Empfehlungen für einen optimalen PEEP bei lungengesunden Patienten im Rahmen elektiver chirurgischer Maßnahmen sind nicht eindeutig (91). Bei lungengesunden Patienten zeigte sich unter Ventilation mit hohem  $V_T$  (15 ml/kg) *versus* niedrigem  $V_T$  (6 ml/kg) und ohne end-expiratorischen Druck (zero end-expiratory pressure, ZEEP) oder niedrigem  $V_T$  (6 ml/kg) mit PEEP (10 cm  $\text{H}_2\text{O}$ ) kein Anstieg in der systemischen Zytokinkonzentration (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10, IL-1 Rezeptorantagonist) (107). Im Gegensatz dazu führte eine PEEP Applikation (5 cm  $\text{H}_2\text{O}$ ) mit einem  $V_T$  von 5-9 ml/kg im Vergleich zu einer ZEEP Beatmung mit einem  $V_T$  von 9 ml/kg während einer Ösophagusresektion unter zeitweiser Ein-Lungen-Ventilation zu einer signifikanten Hemmung systemischer pro-inflammatorischer Mediatoren, einer verbesserten Lungenfunktion und einer Verkürzung der postoperativen Beatmungszeit (61). Zwei weitere aktuelle Studien an Patienten ohne prä-existente Lungenbeeinträchtigung zeigten, dass Low-Tidal-Volume (6 ml/kg) Beatmung in Kombination mit PEEP (10 cm  $\text{H}_2\text{O}$ ) *versus* High-Tidal-Volume (12 ml/kg) Beatmung und ZEEP zum einen die pulmonale Inflammation (106) hemmt, zum anderen die pro-koagulatorische intraavleoläre Aktivität reduziert (18).

### **1.3 Acute Lung Injury (ALI)/Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS)**

Das Syndrom des akuten Lungenversagens (Acute Respiratory Distress Syndrom, ARDS) des Erwachsenen wurde erstmals 1967 von Ashbaugh et al. (5) beschrieben. Das ARDS manifestiert sich als eine akute Funktionsstörung der pulmonalen Gasaustauschstrecke mit einer diffusen, inflammatorischen Lungenreaktion, einem Lungenödem, einer pulmonalen Hypertension und einem hohen intrapulmonalen Rechts-Links-Shunt mit konsekutiver Hypoxämie (5).



### 1.3.1 Epidemiologie

Die Inzidenz des ARDS liegt bei 75/ 100.000 Personen/Jahr (105) und in Europa 17 – 34 Fälle auf 100.000 Personen/Jahr. Da Frühformen des ARDS oft nicht erkannt werden, sind exakte Häufigkeitsangaben immer noch schwierig zu erheben.

Die Inzidenz des ALI liegt in den USA bei 190.000 Fällen und 74.000 Todesfällen pro Jahr (86; 87). Das ALI kann in ein ARDS übergehen und als Vorstufe des ARDS betrachtet werden.

### 1.3.2 Definition

1994 erfolgte auf der American-European Consensus Conference on ARDS eine allgemein gültige Definition des Begriffs ARDS und wurde gegen den Begriff des akuten Lungenversagens (Acute Lung Injury = ALI) abgegrenzt (13).

Ein ARDS ist durch das Auftreten folgender Symptome definiert:

- plötzliche lebensbedrohliche respiratorische Insuffizienz (innerhalb von 24 - 48 h nach direkter oder indirekter Schädigung)
- beidseitige Infiltrate auf der anterior-posterior-Röntgen-Thoraxaufnahme
- $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 200$
- pulmonalkapillärer Verschlussdruck der Lungengefäße (PCWP, pulmocapillary wedge pressure)  $\leq 18$  mm Hg oder fehlende klinische Zeichen für einen erhöhten linken Vorhofsdruck

Das akute Lungenversagen (ALI) unterscheidet sich durch das Ausmass der Hypoxämie des Patienten vom ARDS. Bei einem ALI ist der Oxygenierungszustand, gemessen als Horowitz-Quotient ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ ), unabhängig vom PEEP Niveau  $\leq 300$ .

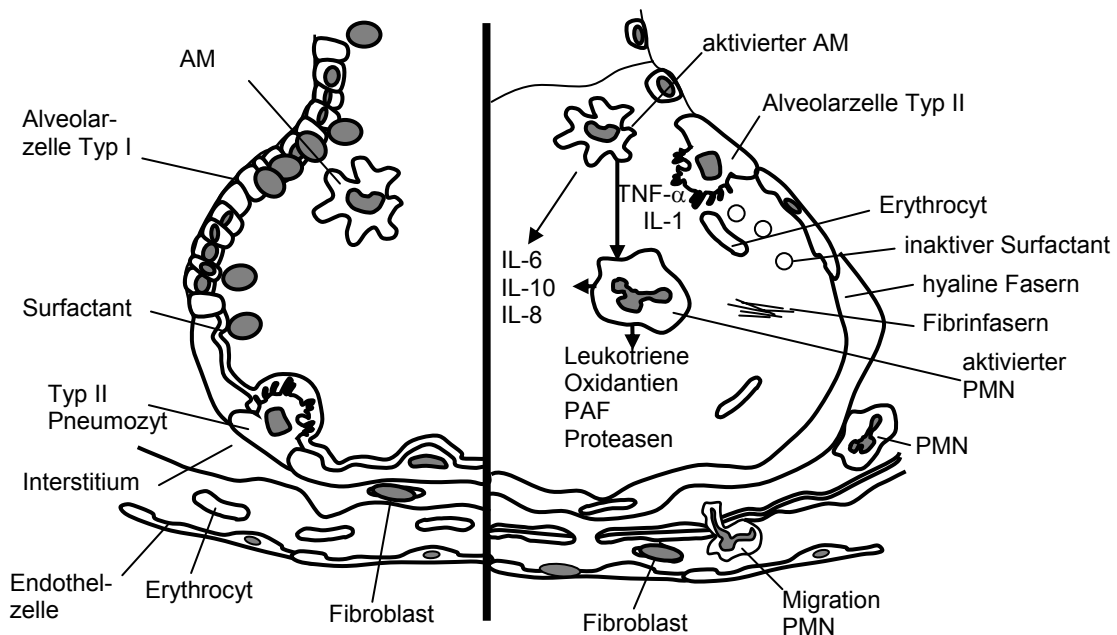
### 1.3.3 Ätiologie

Direkte (primäre) und indirekte (sekundäre) Lungenschädigungen können ein ARDS auslösen (105). Zu den direkten Schäden gehören Pneumonie, Aspiration von Magensekret, Lungenkontusion, Fettembolie, Beinahe-Ertrinken sowie die Inhalation toxischer Substanzen. Indirekte, meist hämatogen bedingte Auslöser sind Sepsis, schwere Traumata, Massentransfusion, kardiopulmonaler Bypass, Intoxikation, Pankreatitis, Transfusion von Blutprodukten und Verbrauchskoagulopathien. Quantitativ sind Pneumonie, Sepsis und Polytraumatisierung die häufigsten Auslöser des ARDS. Die Letalität liegt trotz aller Fortschritte der modernen Intensivmedizin bei 30-40% (62).

### **1.3.4 Pathogenese und Inflammation**

Als Folge einer direkten oder indirekten Lungenschädigung kommt es innerhalb von Stunden durch die Aktivierung der zellulären und humoralen Immunabwehr zu einer massiven Freisetzung pro-inflammatorischer Mediatoren, die eine akute pulmonale Entzündungsreaktion hervorrufen (Abb. 2). Diese akute Entzündungsreaktion mündet in einer massiven Permeabilitätsstörung und nachfolgend in einem nicht kardiogenen Lungenödem. Die natürlichen Barrierefunktionen zwischen Kapillarsystem und Alveolen sind außer Kraft gesetzt. Dies führt zu einem massiven Einstrom proteinreicher Ödemflüssigkeit in das Interstitium und die Alveolen. In den dorsobasalen Lungenabschnitten bilden sich Kompressionsatelektasen, die in Kombination mit dem entzündlichen Infiltrat und dem extravaskulären Lungenwasser zu einer Einschränkung der pulmonalen Gasaustauschfläche führen. Durch das Gewebsödem und die in den Alveolarraum eingeströmten Plasmaproteine kommt es zu einem sekundären Surfactant-Mangel. Endogener Surfactant wird inaktiviert und eine Neubildung in den Typ-II-Pneumozyten gehemmt. Beides begünstigt die weitere Ausbildung von Atelektasen. Die physiologische Gasaustauschfläche der Lunge kann bis zu 70 % reduziert sein. Hämodynamisch manifestiert sich eine Erhöhung des pulmonalvaskulären Widerstandes, bedingt durch Mikrothromben, die Freisetzung vasokonstriktiver Mediatoren und die hypoxische pulmonale Vasokonstriktion. Das alveoläre und interstitielle Lungenödem wird weiter aggraviert durch den Anstieg des pulmonalen Filtrationsdruckes aufgrund der pulmonalen Hypertonie.

Wird dieses histopathologisch als akutes oder exsudatives bezeichnete ARDS Stadium überlebt, bildet sich das chronische oder fibroproliferative Stadium aus, das sich durch den fibrotischen Umbau der Lunge mit einer zunehmenden Perfusions- und Diffusionsverschlechterung auszeichnet. Durch Einlagerung von Ödemflüssigkeit, Fibrinfasern und erhöhte Fibroblastenaktivität kommt es zu einer Fibrosierung der Lunge, die sich einerseits zurückbilden, andererseits in eine ausgedehnte terminale Lungenfibrose mit pulmonaler Globalinsuffizienz entwickeln kann.



**Abb. 2 Cartoon Physiologie und Pathophysiologie der Alveole**

Auf der linken Seite ist schematisch eine Alveole unter physiologischen Bedingungen dargestellt. Rechts sind die im Text beschriebenen charakteristischen pathophysiologischen intraalveolären Veränderungen beim ARDS skizziert.

Die pulmonale Entzündungsreaktion wird auf molekularer Ebene über organ-spezifische Signaltransduktionswege gesteuert. Einer der wichtigsten Regulatoren ist der Transkriptionsfaktor NF- $\kappa$ B, der durch bakterielle und virale Antigene, Zytokine und durch chemisch-physikalische Noxen aktiviert werden kann (94). An dem ubiquitären Vorkommen von NF- $\kappa$ B in vielen immunkompetenten Zellen, sämtlichen Zellen der Gefäßwand und den meisten Körperzellen, kann man seine Bedeutung für die rasche und variable Aktivierung zahlreicher Gene, die für die Immunität, Zellproliferation, Zelldifferenzierung und Apoptose eine Schlüsselrolle besitzen, ermessen. NF- $\kappa$ B ist zusammengesetzt aus Proteinen der NF- $\kappa$ B/Rel-Familie, deren gemeinsames Kennzeichen eine Domäne von etwa 300 Aminosäuren ist, die sogenannte Rel-Homologie-Domäne (8). Bisher sind p65 (RelA), RelB, c-Rel, p100/p52, p105/p50 bekannt. Jeweils zwei Untereinheiten können in unterschiedlichen Kombinationen aneinander binden und auf diese Weise Dimere bilden. Am häufigsten ist NF- $\kappa$ B aus den

Untereinheiten p50/p65 zusammengesetzt (7). Im Zytoplasma ist p50/p65 an eine von sieben inhibitorischen Untereinheiten ( $I\kappa B\alpha$ ,  $I\kappa B\beta$ ,  $I\kappa B\gamma$ ,  $I\kappa B\epsilon$ , Bcl-3, p100 und p105) gebunden (96) und wird unter anderem durch Lipopolysaccharid (LPS), Interleukin-1 (IL-1) und TNF- $\alpha$ , aber auch durch physikalischen Stress, wie er z.B. bei der Beatmung durch auftretende Scherkräfte entsteht, aktiviert.

NF- $\kappa$ B Aktivität wird über vier Hauptregulationswege gesteuert:

- I) die nukleare Translokation,
- II) die Phosphorylierung der Rel Proteine
- III) die Interaktion mit der basalen Transkription
- IV) die Komplex- und Redoxregulation.

In der akuten pulmonalen Inflammation haben residente Alveolarmakrophagen aufgrund ihrer enormen Sekretionsleistung eine Schlüsselrolle in der Initiierung eines pro-inflammatorischen Milieus (6; 14; 39; 95). Hierbei kommt den von Alveolarmakrophagen produzierten und sezernierten Zytokinen TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 und IL-8 eine zentrale Funktion zu (35; 38; 40; 41; 58; 69). Die intraalveoläre Akkumulation neutrophiler Granulozyten, die unter physiologischen Bedingungen im Alveolarraum nur 1-2% der Gesamtzellpopulation ausmachen, prägt das histopathologische Bild und die weitere Pathogenese des ARDS.

### **1.4 Beatmungsstrategien**

Im Rahmen des ALI/ARDS entwickelt sich eine ausgeprägt inhomogene Ventilationsverteilung, assoziiert (29) mit einem Anstieg des Ungleichgewichtes des Ventilations-/Perfusions-Verhältnisses (97), einem Anstieg der Totraumventilation sowie einer höheren Inzidenz einer ventilator-induzierten Lungenschädigung (ventilator-induced lung injury, VILI (24; 101).

Das Ziel der Beatmung ist die Sicherstellung der alveolären Ventilation, der arteriellen Oxygenierung und der Vermeidung zusätzlicher pulmonaler oder systemischer Schädigungen. Obwohl die maschinelle Beatmung das Überleben der Patienten mit ARDS erst ermöglicht hat, birgt die Beatmung inhärente Risiken, die eine zusätzliche Schädigung der Lunge induzieren können. Diese beatmungsassoziierten Lungenschädigungen werden unterteilt in Barotrauma, hervorgerufen durch erhöhte transmurale Drucke, Volutrauma, bedingt durch eine Überdehnung von Alveolen, Atelektotrauma, assoziiert mit der Ausbildung von Atelektasen und Biotrauma, aufgrund einer beatmungsinduzierten pro-inflammatorischen pulmonalen Reaktion. Die Wahl eines adäquaten, lungenschonenden Beatmungsverfahrens von ALI/ARDS Patienten ist somit von fundamentaler therapeutischer Bedeutung.

#### **1.4.1 Protektive Beatmung**

Eine protektive Beatmung hat zum Ziel, die Entstehung und/oder die Aggravierung eines Volu-, Baro-, Atelekto- oder Biotraumas zu verhindern sowie die hämodynamischen Nebenwirkungen der kontrollierten Beatmung so gering wie möglich zu halten (30; 65).

#### **1.4.2 Positiver endexpiratorischer Beatmungsdruck (PEEP)**

Die Inaktivierung von pulmonalem Surfactant ist ein pathophysiologisches Charakteristikum von ALI/ARDS Patienten. In aktuellen Studien wurden frühe und hoch signifikante Surfactantdefizienzen bei ARDS Patienten bestätigt (89) und tierexperimentell in ihrer pathophysiologischen Sequenz untersucht (57; 108). Sowohl die durch Surfactantinaktivierung erhöhte alveoläre Wandspannung als auch Gewicht ödematöser Lungenabschnitte induzieren die Entwicklung von Atelektasen. Die Applikation von PEEP zur Offenhaltung von Alveolen ist seit vielen Jahren ein therapeutischer Eckpfeiler der ARDS Beatmungstherapie (5; 25; 48). Hierbei ist die Wahl der Höhe des applizierten PEEP Gegenstand zahlreicher tierexperimenteller und humanmedizinischer Studien (60). Ein zu niedriger PEEP kann den Alveolarkollaps nicht verhindern, ein zu hoher PEEP kann zur Überdehnung von vor allem nicht-geschädigten Lungenarealen führen.

#### **1.4.3 Low-Tidal-Volume (LTV) Beatmung**

Durch niedrige Tidalvolumina und die Vermeidung von Beatmungsspitzendrücken über 30 cm H<sub>2</sub>O können Baro- und Volutraumata reduziert und der Entwicklung eines ARDS entgegengewirkt werden. Der Vorteil von niedrigen gegenüber höheren Tidalvolumina (6 *versus* 12 ml/kg KG) für das Überleben von ARDS Patienten ist durch das ARDS-Netzwerk in einer multizentrischen randomisierten und kontrollierten Studie bestätigt worden (1).

#### **1.4.4 Rekrutierungsmanöver und Open-Lung-Concept (OLC)**

Zur Wiedereröffnung kollabierter Alveolen gibt es verschiedene Rekrutierungsmanöver. Das von Lachmann und Mitarbeitern eingeführte Manöver nach dem Open-Lung-Concept (50) zielt primär auf eine Abnahme des Atelekto-traumas durch Eröffnung aller kollabierten Lungenareale. In Tiermodellstudien sekundärer Surfactantdefizienz konnte gezeigt werden, dass eine OLC Ventilation den Gasaustausch verbessert und den VILI reduziert (103; 104). Weitere tierexperimentelle Daten deuten darauf hin, dass die Reduktion von Atelektasen zu einer Hemmung von Bakterienwachstum und -translokation führt (104).

Das Prinzip des Rekrutierungsmanövers besteht in einer kurzfristigen Erhöhung des inspiratorischen Spitzendrucks in Kombination mit einem erhöhten PEEP zur Eröffnung atelektatischer Lungenareale sowie einer anschließenden individuellen PEEP Einstellung, die einen erneuten Alveolarkollaps verhindern soll. Eine retrospektive Analyse von Schreier und Mitarbeitern (90) zeigte, dass die Anwendung des OLC bei ARDS Patienten nach Lungenkontusion zu einer Reduktion von Atelektasen und einer verbesserten Oxygenierung führte.

#### **1.4.5 Alternative Beatmungstherapien**

Die extrakorporale CO<sub>2</sub>-Elimination (interventional lung assist, iLA), die extrakorporale pumpengetriebene Membranoxygenierung (ECMO), sowie die Hochfrequenz-Oszillations-Ventilation (HFOV) sind effektive Maßnahmen bei schwerstem, therapieresistenten ARDS mit lebensbedrohlicher Hypoxämie. Dennoch sind die genannten Techniken spezialisierten Kliniken vorbehalten, erfordern einen hohen personellen und finanziellen Aufwand und sind mit einer zum Teil hohen Komplikationsrate assoziiert (11).

### **1.5 Ziele und Fragestellungen**

#### **1.5.1 Effekt der mechanischen Ventilation mit ZEEP versus PEEP auf die pulmonale Inflammation lungengesunder Patienten**

Im Studienkollektiv lungengesunder Patienten, die sich einem operativen Elektiveingriff unterzogen, wurden die Effekte von PEEP- vs. ZEEP-Beatmung auf die Aktivierung des zentralen Transkriptionsfaktors NF- $\kappa$ B in Alveolarmakrophagen verglichen.

#### **1.5.2 Effekt der mechanischen Ventilation nach dem OLC auf die pulmonale Inflammation bei ALI/ARDS Patienten**

Die Studie verglich die pulmonalen und systemischen inflammatorischen Konsequenzen zweier Beatmungsstrategien bei schwerkranken Intensivpatienten mit ALI/ARDS über einen Zeitraum von 72 h. Einer zeitgesteuerten und druckkontrollierten Beatmung mit niedrigen Tidalvolumina wurde ein Konzept gegenübergestellt, das zuzüglich regelmäßige Alveolarrecruitment-Manöver nach dem Open-Lung-Concept umfasste. Verglichen wurden die Effekte der beiden Beatmungsmodi auf Ventilations-, Gasaustausch-, und Hämodynamikparameter, pulmonale und systemische Zytokinfreisetzung sowie die Aktivierung von NF- $\kappa$ B in alveolären Zellen in einem Zeitabstand von 24 h.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Material

#### 2.1.1 Geräte und Zubehör

<b>Gerät / Beschreibung</b>	<b>Hersteller</b>
Fiberoptisches Bronchoskop	BFT20, Olympus, Tokyo, Japan
Biofuge/fresco Zentrifuge	Heraeus, Hannover, Deutschland
Beatmungsgerät Servo 300	Siemens, Deutschland
Megafuge1.0R Zentrifuge	Heraeus, Hannover, Deutschland
Zytozentrifuge (Cytospin 3)	Shandon, Frankfurt a. M. Deutschland
Inkubator BB6220	Heraeus, Hannover, Deutschland
Inkubator Ultima II	Revco, Asheville, USA
ELISA Reader	MR7000, Dynatech, Guernsey, Channel Islands
EMSA Gel-Kammer	Hoeffer, Amersham Biosciences, Freiburg, Germany
Röntgenfilme	AGFA Gefaert, Dänemark
PhosphorImager/ Typhoon 8600	Molecular Dynamics Sunnyvale, USA
pH-Meter, Seven Easy	Mettler-Toledo, Giessen, Deutschland
Pipetten/ Rainin L2, L20, L200, L1000	Mettler-Toledo, Giessen, Deutschland
Elektrophoresis Power Supply E802	Consort, Turhout, Belgien
Nitrocellulosemembran	Schleicher & Schüll, Dassel, Deutschland
Elektrophoreseeinheit	Sigma Aldrich, Deisenhofen
Neubauer-Zählkammer	Sigma-Aldrich, Hamburg, Deutschland
Thermomixer	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Vortexer, MS 2 Minishaker	IKA Janke & Kunkel, Staufen, Deutschland
Waage, GX-6100	A&D Company Ltd., Ahrensburg, Deutschland
Waage, GX-200	A&D Company Ltd., Ahrensburg, Deutschland
Wasserbad, Polystat cc2	Huber, Offenburg, Germany
96-well Mikrotiterplatten	Greiner, Frickenhausen, Deutschland

### 2.1.2 Kits und Medien

Human IL-6 ELISA Kit II	BD Biosciences, San Diego, USA
Human IL-8 ELISA Kit II	BD Biosciences, San Diego, USA
Human TNF- $\alpha$ ELISA	eBioscience, San Diego, USA

RPMI 1640	Cambrex, New Jersey, USA
FCS	Cambrex, New Jersey, USA

### 2.1.3 Reagenzien und Chemikalien

30% Acrylamid/Bisacrylamid (29:1)	Biorad, Hercules, CA, USA
Ammoniumpersulfat	Biorad, Hercules, CA, USA
Bicinchoninic Acid (BCA) Reagenzien	Interchim, Montlucon Cedex, Frankreich
Borsäure	Roth, Karlsruhe, Deutschland
Calziumchlorid	Sigma, München, Deutschland
DDT	Biorad, Hercules, CA, USA
EGTA	Sigma, München, Deutschland
Erythrosin B	Sigma, München, Deutschland
[ $\gamma$ $^{32}$ P]-ATP	Hartmann, Braunschweig, Deutschland
Giemsa-Lösung	Merck, Darmstadt, Deutschland
Glucose	Sigma, München, Deutschland
Glycerol	Sigma, München, Deutschland
Kaliumchlorid	Sigma, München, Deutschland
Magnesiumchlorid	Sigma, München, Deutschland
Magnesiumsulfat	Sigma, München, Deutschland
May-Grünwald-Lösung	Merck, Darmstadt, Deutschland
Methanol	Sigma, München, Deutschland
Natriumchlorid	Sigma, München, Deutschland
NP-40	Roche, Mannheim, Deutschland
PBS	Gibco, Karlsruhe, Deutschland
Pefabloc Sc	Roche, Mannheim, Deutschland
Protease Inhibitor Tabletten (Complete®)	Roche, Mannheim, Deutschland
Poly(dA-dT)-Poly(dA-dT)	Amersham, Freiburg, Deutschland



Poly(dI-dC)-Poly(dI-dC)	Amersham, Freiburg, Deutschland
RPMI 1640	Cambrex, New Jersey, USA
SDS	Roth, Karlsruhe, Deutschland
TEMED	Biorad, Hercules, CA, USA
Tris	Roth, Karlsruhe, Deutschland
T4-Ligase	Roche, Mannheim, Deutschland

## 2.1.4 Puffer und Lösungen

### Nuklearextraktion

Basispuffer I	Tris pH 7.8	10 mM
	MgCl <sub>2</sub>	5 mM
	KCl	10 mM
	EGTA pH 7.0	1 mM
	Sucrose	0.3 M
	ppH <sub>2</sub> O	ad 500 ml
Complete ®	1 Tablette	ad 500 µl ppH <sub>2</sub> O
Kernextraktionspuffer I	Basispuffer I	400 µl
	DDT	1 mM
	Complete®	1.5 µl
	β-Glycerol	10 mM
Basispuffer II	Tris pH 7.8	20 mM
	MgCl <sub>2</sub>	5 mM
	KCl	320 mM
	EGTA pH 7.0	200 µM
	Glycerol	25 %
	ppH <sub>2</sub> O	ad 100 ml
Kernextraktionspuffer II	Basispuffer II	30 µl
	DDT	1 mM

Complete®	1.5 µl
β-Glycerol	10 mM

**Stimulation**

S-LPS	1.5 mg / ml
R-LPS	1 mg / ml

**Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)**

Trans Factor Puffer	Trans Factor Puffer	3 ml
	H <sub>2</sub> O	270 ml

Blocking Puffer	Blocking Reagent	6 g
	Trans Factor Puffer	180 ml

Positiv-Kontrolle	Positiv-Kontrolle	12 %
	Blocking Puffer	88 %

Stopplösung	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2.5M	40 %
	H <sub>2</sub> O	60 %

**EMSA**

Bindungspuffer	5xShiftpuffer	42.9 %
	Poly(dI/dC)	50 µg/ml
	Poly(dA/dT)	50 µg/ml
	KCl	60 mM
	ppH <sub>2</sub> O	26.3 %
Acrylamid-Gel 5%	H <sub>2</sub> O	77.1 %
	TBE (10x)	4.97 %
	Acrylamid 30%	17.4 %
	TEMED	0.05 %
	APS 10%	0.50 %

## **2.2 Methoden**

### **2.2.1 Studienkonzepte, Studiendesign**

#### **2.2.1.1 Effekt der mechanischen Ventilation mit ZEEP vs. PEEP auf die pulmonale Inflammation lungengesunder Patienten**

Die Untersuchungen wurden von der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Universität zu Lübeck begutachtet und genehmigt (AZ 01-0130). Vor dem Untersuchungsbeginn wurden die Patienten ausführlich mündlich und schriftlich informiert und die Zustimmung der Aufnahme in die Untersuchung schriftlich dokumentiert.

#### **2.2.1.2 Patientenauswahl und Einschlusskriterien**

Es wurden Patienten der Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde der Medizinischen Fakultät der Universität zu Lübeck ausgewählt, die sich aufgrund eines operativen Eingriffes einer Intubationsnarkose unterziehen mussten.

#### **Einschlusskriterien**

- ASA Status I/II (gesunder Patient ohne Vorerkrankungen)
- Alter 18-70 Jahre
- antizipierte Operationsdauer > 90 min
- Nichtraucheranamnese

#### **Ausschlusskriterien**

- BMI > 35
- Infektion oder Leukozytose
- Herzinsuffizienz
- pulmonale Vorerkrankung
- maligne Grunderkrankung
- Immunsuppressionstherapie
- Bronchoskopie, BAL, oder Beatmung innerhalb der letzten 2 Monate

Patienten mit einer antizipierten Operationsdauer > 90 min wurden randomisiert einer ZEEP- oder PEEP- (10 cm H<sub>2</sub>O) ventilierten Gruppe zugeteilt. Alle Patienten wurden mit einem V<sub>T</sub> von 8 ml/kg KG, einer I:E Ratio von 1:2, einer FiO<sub>2</sub> von 0.5 und einer an einem paCO<sub>2</sub> von 35-45 mmHg adjustierten Atemfrequenz beatmet. Arterielle Blutgasanalysen wurden 10 min nach der Intubation, in 30-minütigen Intervallen sowie im Anschluss an die Operation unmittelbar vor der BAL durchgeführt.

Patienten, die eine antizipierte Operationsdauer < 90 min hatten, wurden der Kontrollgruppe zugeordnet. Bei den Kontrollpatienten wurde im unmittelbaren Anschluss an die Intubation eine BAL durchgeführt.

### **2.2.2 Effekt der mechanischen Ventilation nach dem Open-Lung-Concept auf die pulmonale Inflammation bei ALI/ARDS Patienten**

Die Untersuchungen wurden von der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Universität zu Lübeck begutachtet und genehmigt (AZ 01-033). Vor dem Untersuchungsbeginn wurden die Patienten oder deren rechtliche Vertreter ausführlich mündlich und schriftlich informiert und die Zustimmung der Aufnahme in die Untersuchung schriftlich dokumentiert.

#### **2.2.2.1 Patientenauswahl und Einschlusskriterien**

Es wurden Patienten nach großen chirurgischen Eingriffen der Intensivstation der Klinik für Anästhesiologie der Medizinischen Fakultät der Universität zu Lübeck in die Untersuchung eingeschlossen, die die ARDS/ALI Kriterien gemäß der Amerikanisch-Europäischen Konsensuskonferenz (13) erfüllten.

#### **Einschlusskriterien:**

- Horowitz-Quotient  $\leq 300$  (ALI) bzw.  $\leq 200$  (ARDS)
- Beginn des ALI/ARDS < 72 h
- bilaterale Infiltrate auf der a.p. Röntgenthoraxaufnahme
- pulmonalkapillärer Verschlussdruck (PCWP) < 18 mmHg
- > 18 Jahre

#### **Ausschlusskriterien:**

- Schädelhirntrauma mit erhöhtem intrakraniellen Druck
- neuromuskuläre Atemstörung mit Einfluss auf die Spontanatmung
- schwere chronische respiratorische Atemstörung
- Verbrennungspatienten (>30% Körperoberfläche)
- chronische Lebererkrankung (Klasse C der Child Klassifikation)
- erwartete über 50% Mortalitätsrate in den nächsten 6 Monaten
- Körpergewicht über 1 kg /cm Körpergröße
- vorausgegangene Dauertherapie mit Steroiden
- Z.n. Organtransplantation

- Teilnahme an einer anderen Studie
- Wechsel des Beatmungsverfahrens oder Einsatz zusätzlicher Therapiestrategien (z. B. Bauchlage, inhalative NO/Prostacyclin-Applikation oder Steroidtherapie)
- Schwangerschaft

### **2.2.2.2 Beatmungsprotokolle**

Die ALI/ARDS Patienten wurden in zwei Gruppen randomisiert:

#### **(A) konventionelle Beatmung ohne Rekrutierungsmanöver, im Folgenden LV- (low volume) Gruppe:**

- i.e. zeitgesteuerte, druckkontrollierte Beatmung mit niedrigem Tidalvolumen
- obere Druckbegrenzung des mittleren Atemwegsdruckes  $\leq 30$  cm H<sub>2</sub>O
- PEEP 5-15 cm H<sub>2</sub>O
- AF 8-40/min
- I:E 1:1 und 1:2
- V<sub>T</sub> 6-8 ml/kg KG
- FiO<sub>2</sub> nach Zielparametern

Die FiO<sub>2</sub> und der PEEP wurden entsprechend dem Algorithmus des ARDSnet einander angepasst.

#### **Definition der Zielparameter:**

- arterieller pH 7.3 -7.45
- PaCO<sub>2</sub> 32 - 45 mmHg
- PaO<sub>2</sub> 60 - 80 mmHg
- Paw < 35 mbar

#### **(B) konventionelle Beatmung mit Rekrutierungsmanöver/OLC, im Folgenden LV/OLC-Gruppe:**

- i.e.: zeitgesteuerte, druckkontrollierte Beatmung mit niedrigem Tidalvolumen
- zusätzliche Rekrutierungsmanöver initial, im Abstand von 8 h, sowie bei Abfall des PaO<sub>2</sub> unterhalb der Zielparameter
  - Rekrutierungsmanöver, Dauer maximal 60 sec:
    - FiO<sub>2</sub> 1.0
    - kurzfristige PEEP Applikation auf maximal 25 cm H<sub>2</sub>O

- schrittweise Erhöhung des end-inspiratorischen Beatmungsdruckes auf 45-60 cm H<sub>2</sub>O
- zur Ermittlung des alveolären Verschlussdruckes Reduktion des end-inspiratorischen Verschlussdruckes bis der Sauerstoffpartialdruck sinkt
- Einstellung des inspiratorischen Beatmungsdruckes 2 cm H<sub>2</sub>O über dem Verschlussdruck
- Reduktion des PEEP in 2 cm H<sub>2</sub>O-Schritten bis der Sauerstoffpartialdruck sinkt, erneutes Recruitment
- Einstellung des PEEP 2 cm H<sub>2</sub>O oberhalb des Verschlussdruckes

Zielparameter des Rekrutierungsmanövers:

$$\text{PaO}_2 > 450 \text{ mmHg}$$

Abbruchkriterien des Rekrutierungsmanövers:

Absinken des diastolischen Blutdruckes um 20%

### **2.2.2.3 APACHE-II-Score und Lung-Injury-Score (LIS)**

Der APACHE-II-Score (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) ist das derzeit am häufigsten verwendete Klassifikationssystem zur quantitativen Beurteilung des Schweregrades der Erkrankung und der individuellen Prognose von Intensivpatienten. Der APACHE-II beinhaltet drei Komponenten: einen aus 12 physiologischen Messungen gewonnenen akuten Score, einen altersbezogenen Score und einen Score zur Beurteilung des chronischen Krankheitszustandes. Abweichungen physiologischer Parameter von der Norm (Punktwert 0) werden je nach Ausprägung mit steigenden Punktwerten belegt. Ferner werden die individuelle Anamnese sowie das Alter mit Punktwerten belegt. Die Score Hypothese lautet, dass je größer die Abweichung physiologischer Parameter von der Norm, je schwerwiegender die Anamnese und je höher das Alter des Patienten, desto schwerer die Erkrankung und damit die Prognose. Es konnte gezeigt werden, dass die APACHE-II-basierte Mortalitätsprognose bei unselektionierten Intensivpatienten gut ist (45; 46; 56).

Der Schweregrad des ALI/ARDS wurde anhand des Lung-Injury-Scores von Murray et al. ermittelt (45; 46; 67). Dazu wurden folgende klinische Parameter mit Punkten bewertet: (i)

Ausmaß der alveolären Verschattung in der Röntgen-Thorax Übersichtsaufnahme, (ii)  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ , (iii) PEEP, (iv) Compliance.

Die Datenerhebung für die genannten Scores erfolgte durch die stationsführenden Oberärzte der Intensivstation der Klinik für Anästhesiologie. Bei den ALI/ARDS Patienten wurden unmittelbar nach der Aufnahme in die Studie (T0) sowie nach 24 h (T1), 48 h (T2), und 72 h (T3) die Scores erhoben sowie eine BAL durchgeführt.

### **2.2.3 Bronchoalveoläre Lavage (BAL)**

Die BAL stellt ein Standardverfahren zur Diagnostik pulmonaler Pathogenbesiedlung bei beatmungspflichtigen Patienten dar. Bei den intubierten und beatmeten Patienten wurde über den endotrachealen Tubus ein fiberoptisches Bronchoskop eingeführt und die BAL über den Mittellappen- oder Lingulabronchus durchgeführt. Nach atraumatischer Positionierung der Bronchoskopspitze wurden 6 x 20 ml körperwarme 0,9% NaCl-Lösung fraktioniert bronchoskopisch instilliert und unter milder Aspiration zurückgewonnen. Die gepoolte Recovery wurde zur Entfernung von Mukus steril filtriert und ein Aliquot (5 ml) im Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene des UKSH mikrobiologisch analysiert. Zur Sedimentation zellulärer Bestandteile wurde die BAL bei 4°C und 150 x g für 10 min zentrifugiert. Der Überstand wurde in 1 ml Aliquots bei – 80 °C gelagert. Das Zellpellet wurde via Zentrifugation erneut gewaschen, der Überstand dekantiert und das Pellet in 2 ml PBS für die anschließende Zellzahl- und Vitalitätsbestimmung resuspendiert. Die Zellen wurden im Anschluss differenziert und es erfolgte eine Nuklearextraktion zur Bestimmung der DNA Bindungsaktivität von NF- $\kappa$ B.

Die Durchführung der Lavagen oblag einem mit dieser Technik langjährig vertrauten Oberarzt (T. M.) der Klinik für Anästhesiologie. Das Abbruchkriterium der BAL Durchführung bestand in einem Abfall der peripheren Sauerstoffsättigung von mehr als 15 % des Ausgangswertes.

#### **2.2.3.1 Zellzahl- und Vitalitätsbestimmung**

Die Zellzahl- und Vitalitätsbestimmung wurde mit der Erythrosin-Exklusions-Methode durchgeführt. Hierbei wird der geladene Farbstoff Erythrosin B von lebenden Zellen nicht aufgenommen, dringt jedoch in tote Zellen aufgrund der zerstörten Zellmembran ein und färbt diese rot. 90  $\mu$ l der Zellsuspension wurde mit 10  $\mu$ l Erythrosin B verdünnt und gleichzeitig gefärbt. Nach 4-minütiger Inkubation auf Eis wurden die gefärbten Zellen in der Neubauer-Zählkammer mikroskopisch ausgezählt. Pro Bestimmung wurden die Zellzahlen von jeweils 16 Kleinquadraten summiert, um die Zellzahl in einem Großquadrat



zu erhalten. Sämtliche Zellzahlbestimmungen wurden als Duplikat bestimmt. Der Ausschluss der Probe erfolgte bei einer Zellzahl  $\leq 8 \times 10^5$  Zellen oder bei einer Menge von mehr als 10 % toten Zellen/ml.

### **2.2.3.2 Zelldifferenzierung**

Aliquots (150  $\mu$ l) der BAL-Zellsuspension wurden in Zentrifugenkammern überführt und mit Filterpapier und Objektträger 10 min bei 400 x g zentrifugiert. Im Anschluss an die Trocknung der Präparate erfolgte die panoptische Färbung nach Pappenheim, die eine Differenzierung von Granula, Zytoplasma und Kernstrukturen ermöglicht. Im Anschluss wurden 400 Zellen lichtmikroskopisch differenziert.

### **2.2.3.3 Kultur und Stimulation alveolärer Zellen**

Alle Arbeiten mit Zellkulturen erfolgten an einem Arbeitsplatz der Sicherheitsstufe S1 unter sterilen Bedingungen an einer Reinraumwerkbank mit autoklavierten oder heißluftsterilisierten Materialien und Geräten sowie sterilfiltrierten Lösungen.

RPMI wurde mit hitzeinaktiviertem (56° C, 30 min), i.e. Komplement-depletiertem FCS supplementiert. Die Zellen ( $8 \times 10^5$ /ml) adhärten für 90 min bei 37°C und 5 % CO<sub>2</sub>. Anschließend wurde das Kulturmedium abgesaugt und die eigentliche Stimulation schloss sich an.

Als Positivkontrolle wurden Lipopolysaccharid (LPS)-stimulierte Alveolarmakrophagen gesunder Kontrollpatienten verwendet (10 ng/ml LPS, 4 h, 5% CO<sub>2</sub> 37°C). Nach der Stimulation wurde der Überstand abgenommen und bei -70°C gelagert. Die adhärten Zellen wurden nach dem Waschen mit PBS durch Abschaben gewonnen. Nach der Zentrifugation bei 4°C für 10 min mit 4500 x g wurde der Überstand verworfen und das Pellet der Nuklearextraktion zugeführt.

### **2.2.3.4 Nuklearextraktion**

Die Zellen wurden in 500  $\mu$ l kaltem PBS resuspendiert und bei 4500 x g, 10 min, 4°C zentrifugiert. Der Überstand wurde dekantiert, das Pellet in 400  $\mu$ l Kernextraktionspuffer I resuspendiert und für 15 min auf Eis inkubiert. Im Anschluss wurde 25  $\mu$ l des Detergenz Nonidet P-40 zugegeben und die Suspension für 10 Sekunden gevortext. Nach erneuter Zentrifugation bei 4500 x g, 5 min, 4°C wurde der Überstand mit den cytosolischen Bestandteilen aliquotiert und bis zur weiteren Verarbeitung bei -70 °C gelagert. Das Pellet wurde in 30  $\mu$ l Kernextraktionspuffer II resuspendiert und 15 min auf Eis inkubiert. Anschließend wurde das resuspendierte Pellet bei 16000 x g, 10 min, 4°C zentrifugiert,

der die Zellkernextrakte enthaltende Überstand aliquotiert und bis zur weiteren Verarbeitung bei  $-70^{\circ}\text{C}$  gelagert.

#### **2.2.3.5 Bicinchoninic acid (BCA) Protein Assay**

Zur Proteinkonzentrationsbestimmung der zytosolischen und nuklearen Zellfraktionen der BAL wurde die BCA-Proteinbestimmung herangezogen. Bicinchoninsäure (bicinchoninic acid, BCA) ist der Trivialname für die chemische Verbindung 2,2'-Bichinolin-4,4'-dicarbonsäure. Das Assay kombiniert die Biuret-Reaktion, i.e., die Reduktion von  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen zu  $\text{Cu}^{1+}$ -Ionen durch Protein, mit der Fähigkeit der Bicinchoninsäure, mit  $\text{Cu}^{1+}$ -Ionen einen blauviolettten Komplex zu bilden, dessen Absorption bei einer Wellenlänge von 562 nm photometrisch detektiert wird. Das Assay wurde in 96-Loch-Mikrotiterplatten durchgeführt. Für die Proteinbestimmung wurde zuerst eine Standardreihe mit bovinem Serumalbumin (BSA, Stammlösung 2 mg/ml) in Konzentrationen von 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4 mg/ml erstellt und dann eine Doppelbestimmung der verdünnten (5  $\mu\text{l}$ ) Proben durchgeführt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 250  $\mu\text{l}$  BCA-Arbeitslösung, d.h. aus neunundvierzig Teilen Reagenz A (Puffer) und 1nem Teil Reagenz B (Kupfersulfatlösung) gestartet. Nach 30-minütiger Inkubation bei  $37^{\circ}\text{C}$  erfolgte die photometrische Auswertung bei 562 nm. Die Proteinkonzentrationen wurden anhand der aus dem BSA-Standard abgeleiteten Eichgeraden ermittelt. Der Proteingehalt wurde in  $\mu\text{g}$  Protein pro  $\mu\text{l}$  Lösung angegeben.

#### **2.2.4 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)**

ELISA ist ein immunologisches Nachweisverfahren von Proteinen, Viren, und Hormonen, das auf einer enzymatischen Farbreaktion beruht. Befindet sich in einer Probe ein entsprechendes Antigen, bindet es die spezifischen Antikörper. Diese sind an eine feste Phase, wie z.B. eine Mikrotiterplatte, gebunden. Enthält die zugegebene Probe das dazugehörige Antigen, bindet dieses in einer Antikörper-Antigenreaktion an den stationären, primären Antikörper. Enthält die Probe das entsprechende Antigen nicht, bindet es nicht und wird im Folgeschritt von der Mikrotiterplatte abgewaschen. Bei dem sogenannten Sandwich-ELISA werden zwei Antikörper verwendet, die beide spezifisch an das nachzuweisende Antigen binden. Nach einer Inkubationsphase der primären Antikörper-Antigenreaktion wird als Detektionsantikörper ein zweiter, enzymgekoppelter Antikörper zugegeben, der ebenfalls an das Antigen bindet und es entsteht ein Antikörper-Antigen-Antikörper Komplex. Nach erneutem Waschen der Platte wird durch ein

enzym spezifisches Chromogen ein Farbumschlag katalysiert, welcher photometrisch ausgewertet werden kann.

Die Zytokinkonzentrationen wurden im zellfreien Plasma und BAL-Überständen quantifiziert. Die primären Antikörper (monoklonaler TNF $\alpha$ , IL-6, IL-8) wurden an eine feste Phase (96-Well-Mikrotiterplatte) gebunden. Nach Inkubation mit Standards und Proben wurden im nächsten Schritt entsprechende Detektionsantikörper zugegeben, an deren Ende Meerrettichperoxidase (HRP) gebunden war. Als Chromogen wurde 3,3',5,5'-Tetramethyl-Benzidin-Dihydrochlorid verwendet. Die photometrische Messung erfolgte bei 450 nm.

### **2.2.5 DNA-Markierung und Electrophoretic mobility shift assay (EMSA)**

Der EMSA, auch als Gel-Retentionsanalyse bezeichnet, ist ein elektrophoretisches Analyseverfahren der Wechselwirkung zwischen DNA-bindenden Proteinen und DNA. Bindet die DNA an Proteine, ist die elektrophoretische Mobilität des Protein/DNA-Komplexes in einem nicht denaturierten Polyacrylamidgel geringer als die der proteinfreien DNA. Hierbei bezeichnet man die proteingebundene DNA als "geschifft" gegenüber ungebundener DNA. Aus der Stärke der so entstandenen neuen Bande kann man auf die Bindungsaffinität des DNA Bindungsproteins schließen und Zell- und Stimulus-spezifische Vergleiche durchführen.

Es wurden 2 – 5  $\mu$ g Nuklearextrakt eingesetzt und mit 50  $\mu$ g poly (dI/dC, dA/dT)/ml und 7.5 fmol  $^{32}$ P-markierten doppelsträngigen Oligonucleotiden inkubiert. Die Oligonukleotide enthalten die NF- $\kappa$ B Sequenz 5'-AGCTCAGAGGGGACTTTCCGAGAGAGC-3', so dass sie spezifisch an NF- $\kappa$ B binden. Zur Kontrolle der Spezifität wurden als Negativkontrolle einzelne Proben mit NF- $\kappa$ B-bindenden Oligonukleotiden, die nicht radioaktiv markiert waren, vor der Gel-Elektrophorese inkubiert und als Positivkontrolle wurden LPS-stimulierte Alveolarmakrophagen gesunder Kontrollpatienten eingesetzt. Die elektrophoretische Auftrennung erfolgte bei 150 V, 80 mA, und 4°C für 2 h. Im Anschluß erfolgte eine Autoradiographie und densitometrische Auswertung der Autoradiogramme mit Hilfe des PhosphorImagers.

### **2.2.6 Verarbeitung der Blutproben**

Die zeitgleich mit der BAL entnommenen Blutproben wurden bei 1500 x g für 10 min und 4°C zentrifugiert und das zellfreie Plasma bei – 80°C zur Bestimmung der Zytokine gelagert.

### **2.3 Statistik**

Die Daten sind als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung angegeben. Klinische Charakteristika zwischen den Gruppen wurden verglichen mit dem Student *t* test für parametrische Daten und dem Mann-Whitney *U* Test für nicht-parametrische Daten. Die statistische Analyse der Unterschiede zwischen T0 und T3 Werten wurde mit dem Wilcoxon's Ranksummentest durchgeführt. Das statistische Signifikanzlevel wurde bei  $p < 0.05$  festgelegt.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Effekt der mechanischen Beatmung mit ZEEP versus PEEP auf die pulmonale Inflammation lungengesunder Patienten

##### 3.1.1 Demographische und klinische Patientendaten

Von den 76 gescreenten Patienten der Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde wurden 15 Patienten in der Kontrollgruppe (Gruppe A), 15 in der PEEP- beatmeten (Gruppe B) und 15 in der ZEEP-beatmeten (Gruppe C) Gruppe analysiert. Sekundär ausgeschlossen wurden Patienten mit positivem mikrobiologischem Befund, einer BAL Recovery  $\leq 30\%$ , und  $\leq 78\%$  Alveolarmakrophagen in der Differenzialzytologie. Die Grenzwerte basieren auf Referenzwerten von gesunden Nichtrauchern und wurden ausgewählt, um eine Homogenität der BAL Ergebnisse zu gewährleisten (22). Die klinischen Charakteristika der drei Patientengruppen sind in Tabelle 1 dargestellt. Die Gruppen waren gleich in Bezug auf Alter, Geschlecht, BMI, ASA Klassifikation und Leukozytenzahl. Die Beatmungsdauer vor der Durchführung der BAL in den Gruppen B und C lag zwischen 90 und 320 min ohne signifikanten Unterschied. Gasaustausch-, Ventilations- und Hämodynamikparameter der Studienpatienten wurden in einer Parallelauswertung erfasst.

**Tabelle 1. Demographische und klinische Daten ZEEP- vs PEEP- beatmeter lungengesunder Patienten**

	Kontrollpatienten	ZEEP	PEEP (10 cmH <sub>2</sub> O)
n	15	15	14
Alter (Jahre)	35 ( $\pm 10.03$ )	35 ( $\pm 12.42$ )	39 ( $\pm 15.32$ )
Geschlecht (w/m)	8/7	7/8	6/8
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25.2 ( $\pm 3.5$ )	24.2 ( $\pm 3.5$ )	24.1 ( $\pm 3.9$ )
ASA (I/II)	13/2	12/3	12/2
Leukozyten (x10 <sup>9</sup> /l)	6.68 ( $\pm 1.3$ )	6.00 ( $\pm 1.1$ )	6.06 ( $\pm 1.0$ )
Dauer der Beatmung (min)	-	147.5 (90-320)	155.2 (95-252)

Die Daten sind als Mittelwerte ( $\pm$  SD) dargestellt. ZEEP = zero end-expiratory pressure; PEEP = positive end-expiratory pressure; BMI = Body mass index; ASA = American Society of Anesthesiologists.

### 3.1.2 BAL Differenzialzytologie

BAL-Recovery, Gesamt- sowie Differenzialzytologie (Tab. 2) waren innerhalb des Normbereiches und zeigten bis auf einen in der Kontrollgruppe erhöhten Prozentsatz Eosinophiler keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Die Ergebnisse der mikrobiologischen BAL-Analysen waren in allen Fällen negativ.

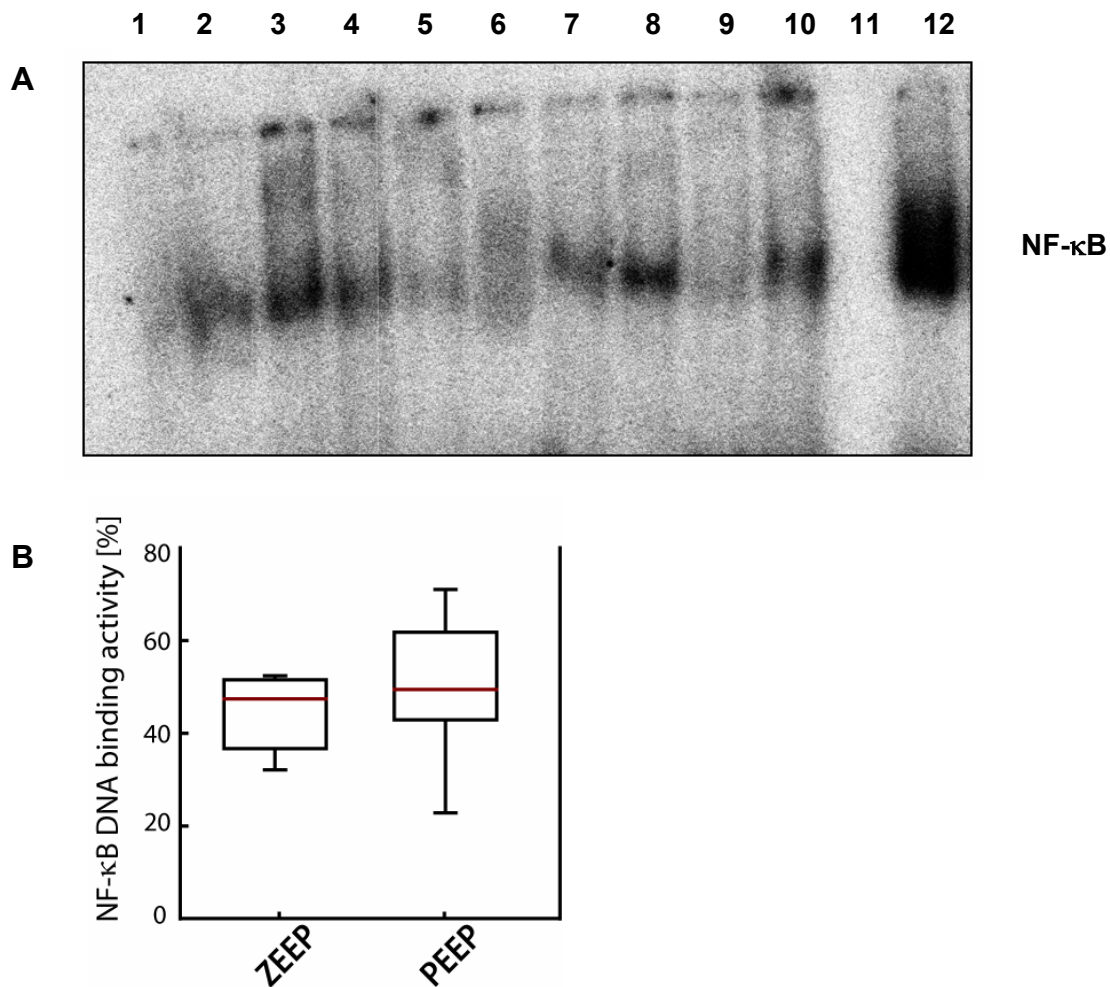
**Tabelle 2 BAL Recovery, Gesamt- und Differenzialzytologie ZEEP- vs PEEP-beatmeter lungengesunder Patienten**

	Kontrollgruppe	ZEEP	PEEP (10 cmH <sub>2</sub> O)
n	15	15	14
Recovery, ml	65.6 (±13.5)	73.6 (±9.1)	70.5 (±11.5)
Gesamtzellzahl, x10 <sup>6</sup>	1.77 (±0.1)	1.93 (±0.97)	1.28 (±0.61)
Makrophagen (%)	92 (±6)	93 (±4)	92 (±6)
Neutrophile (%)	1.8 (±1.7)	1.5 (±1.5)	2.5 (±3.6)
Eosinophile (%)	0.5 (±0.6) *	0.17 (±0.2)	0.12 (±0.2)
Basophile (%)	0.02 (±0.07)	0.03 (±0.07)	0.02 (±0.06)
Lymphozyten (%)	4.9 (±3.8)	5.8 (±3.3)	5.6 (±4.5)
Mikrobiologische Analyse	Kultur neg.	Kultur neg.	Kultur neg.

Die Daten sind als Mittelwerte ± SD dargestellt. \*p < 0.05, Kontrollgruppe vs ZEEP und PEEP Gruppe.

### 3.1.3 DNA-Bindungsaktivität von NF- $\kappa$ B in Alveolarmakrophagen

Die DNA-Bindungsaktivität von NF- $\kappa$ B wurde in Alveolarmakrophagen von 21 Patienten bestimmt (ZEEP, n=10; PEEP, n=11). Neun bronchoalveoläre Lavagen mussten aufgrund einer Zellviabilität  $\leq 90\%$  von der NF- $\kappa$ B Analyse ausgeschlossen werden. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der DNA-Bindungsaktivität von NF- $\kappa$ B in den Nuklearextrakten von Alveolarmakrophagen von PEEP- versus ZEEP-beatmeten Patienten (Abb. 3A und B).



**Abb. 3 DNA-Bindungsaktivität von NF- $\kappa$ B in Alveolarmakrophagen ZEEP- vs PEEP-beatmeter lungengesunder Patienten.** (A) repräsentativer EMSA; Spur 1, nicht radioaktiv markierte Oligonukleotide, Spur 2-5: ZEEP-Gruppe, Spur 6-9: PEEP-Gruppe, Spur 10: Kontrollpool, 11: nada, 12: Positivkontrolle: *in vitro* LPS-stimulierte Alveolarmakrophagen (Kontrollpatient). (B) Densitometrische Intensität der NF- $\kappa$ B Bindungsaktivität in Alveolarmakrophagen der Studienpatienten (n=21) als Prozent der

Kontrolle. Die statistische Darstellung in Boxplots zeigt den Median, das obere und das untere Quartil sowie ein Minimal- und ein Maximalwert.

### **3.2 Effekt der mechanischen Beatmung nach dem OLC auf die systemische und pulmonale Inflammation bei ALI/ARDS Patienten**

#### **3.2.1 Demographische und klinische Patientendaten**

Es wurden 11 Patienten der Intensivstation in die Studie aufgenommen, von denen 5 in der LV/OLC-Gruppe, und 6 in der LV-Gruppe randomisiert analysiert worden sind. Die demographischen und klinischen Charakteristika der Patienten sind in Tabelle 3 dargestellt. Bei Studieneintritt (T0) zeigten die Patienten keine Unterschiede bezüglich des Alters, der Geschlechtsverteilung, des Horowitz-Indexes, des APACHE-II-Scores und des Lung-Injury-Scores. Die Ergebnisse der Scoring-Systeme dokumentierten schwerkranke Patienten mit ALI/ARDS.

**Tab. 3 Demographische und klinische Daten LV- vs. LV/OLC-beatmeter ALI/ARDS Patienten**

Parameter	LV	LV/OLC
n	6	5
Alter (Jahre)	61.2 ± 5.6	57.0 ± 6.3
Geschlecht (w/m)	2/4	2/3
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> (T0)	223.2 ± 33.5	148.8 ± 21.9
APACHE-II (T0)	15.0 ± 3.1	14.6 ± 5.5
LIS (T0)	2.0 ± 0.2	2.4 ± 0.1

Die Daten sind als Mittelwerte (± SD) dargestellt; APACHE = Acute Physiology and Chronic Health Evaluation; LIS = Lung-Injury-Score; T0 = Studienbeginn

Neben Pneumonie, Nierenversagen und Aortendissektion dominierten akute myokardiale Erkrankungen und Thoraxtraumata unter den intensivmedizinischen Aufnahmediagnosen (Tab. 4). Bei vier Patienten war die Erstdiagnose ein ARDS.



**Tab. 4 Klinischer Aufnahmegrund auf die Intensiv-/ bzw. Notaufnahmestation**

<u>Erkrankung</u>	<u>n</u>
Pneumonie	6
Nierenversagen akut/chronisch	6
Aortendissektion	5
ARDS	4
Thoraxtrauma	4
ACVB	3
Myokardinfarkt	2
Aortenaneurysma	2
Angina Pectoris	2
Querschnittssymptomatik	2
Sepsis/septischer Schock	2
Reanimation	2
Herzbeutelamponade	1
Perikarderguß	1
Hämatothorax	1
Polytrauma	1

### 3.2.2 APACHE-II-Score

Initial bestand kein Unterschied in der Höhe des APACHE-II-Scores zwischen den Gruppe (Tab. 3 und Abb. 4). Im Verlauf der Studie änderte sich die Höhe des APACHE-II-Scores bei den LV-Patienten nicht (Abb. 4). Der Score in dieser Gruppe lag initial bei  $15.0 \pm 3.1$  und nach 72 h bei  $16.8 \pm 3.9$ . Bei den LV/OLC-Patienten zeigte sich eine deutliche, wenn auch nicht signifikante Reduktion des APACHE-II-Scores von  $14.6 \pm 5.5$  bei Studienbeginn auf  $9.0 \pm 1.0$  bei Studienende (Abb. 4).

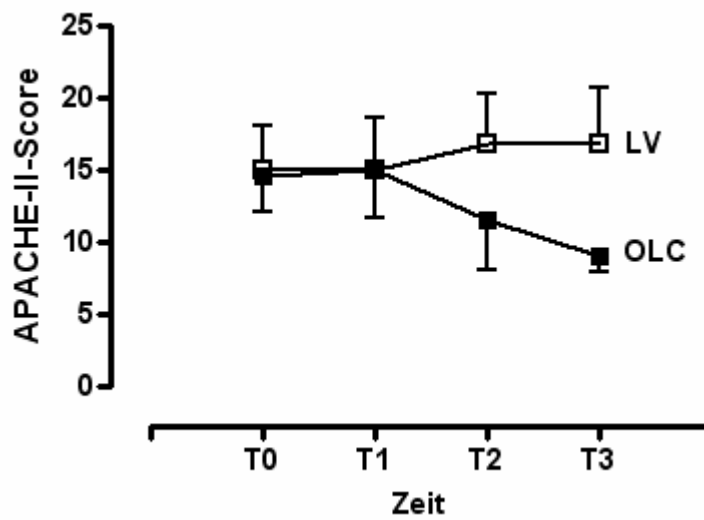


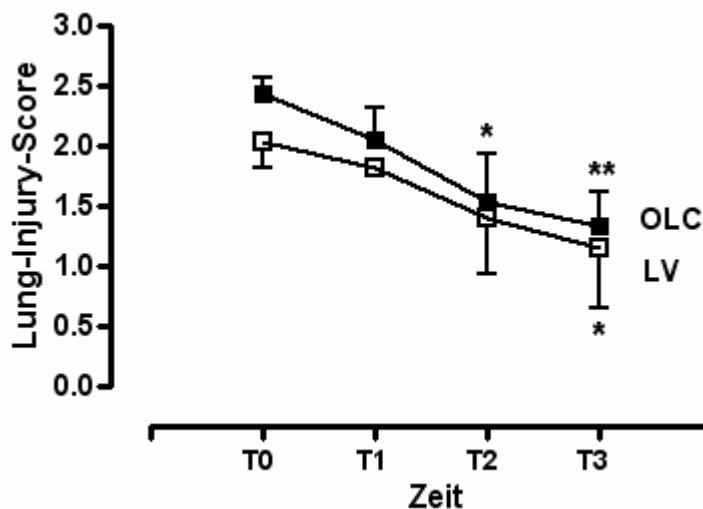
Abb. 4

**APACHE-II-Score bei LV- vs LV/OLC-beatmeten ALI/ARDS Patienten.** T0, bei Studienbeginn, T1, nach 24 h, T2, nach 48 h, T3, nach 72 h. Dargestellt sind Mittelwert  $\pm$  SEM.

### 3.2.3 LIS, Ventilations-und Gasaustauschparameter

Die initialen Scorewerte des LIS zeigten keinen Unterschied zwischen den LV/OLC- und LV-Gruppen (s. Tab. 3). In beiden Gruppen zeigte sich eine signifikante Reduktion des LIS im Studienverlauf (Abb. 5).

In der LV/OLC-Gruppe war der LIS nach 48 h ( $p < 0.05$ ) und nach 72 h ( $p < 0.01$ ) signifikant im Vergleich zum Studienbeginn gesunken. Auch in der LV-Gruppe war der LIS bei Studienende signifikant ( $p < 0.05$ ) im Vergleich zum Studienbeginn reduziert.

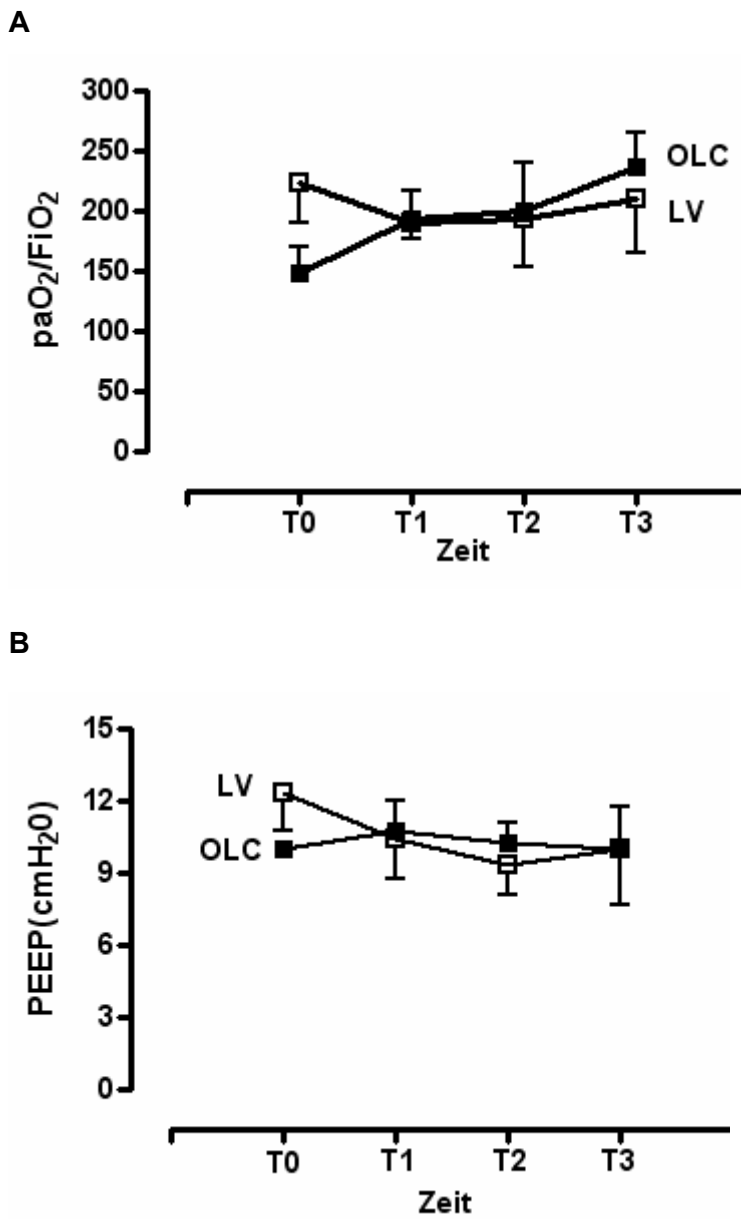


**Abb. 5**

**Lung-Injury-Score von LV- vs LV/OLC-beatmeten ALI/ARDS Patienten.** T0, bei Studienbeginn, T1, nach 24 h, T2, nach 48 h, T3, nach 72 h. Dargestellt sind Mittelwert ± SEM. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  vs T0.

Der Oxygenierungsindex nach Horowitz änderte sich weder innerhalb von noch zwischen den Gruppen signifikant. In der LV/OLC-Gruppe zeigte sich eine tendenzielle Verbesserung des Index von initial  $149 \pm 22$  auf  $229 \pm 29$  (mean ± SEM) am Studienende (Abb. 6A).

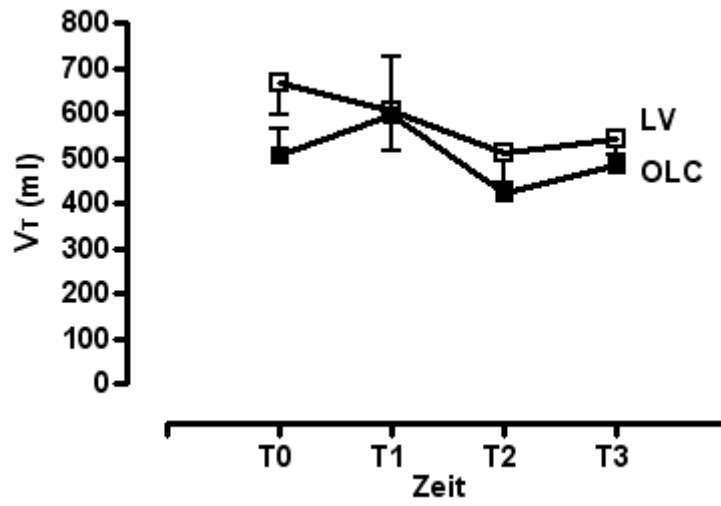
Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der Höhe des PEEP (Abb. 6B), des Tidalvolumens, der Atemfrequenz und des inspiratorischen Spitzendruckes zwischen den Gruppen im zeitlichen Verlauf (Abb. 7 A, B, C).



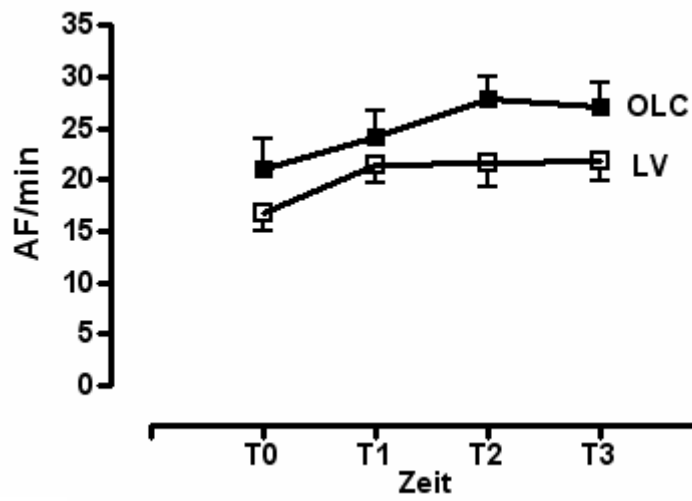
**Abb. 6**

Oxygenierungsindex nach Horowitz (A) und PEEP (B) bei LV vs. LV/OLC-beatmeten Patienten. T0, bei Studienbeginn, T1, nach 24 h, T2, nach 48 h, T3, nach 72 h. Dargestellt sind Mittelwert  $\pm$  SEM.

A



B



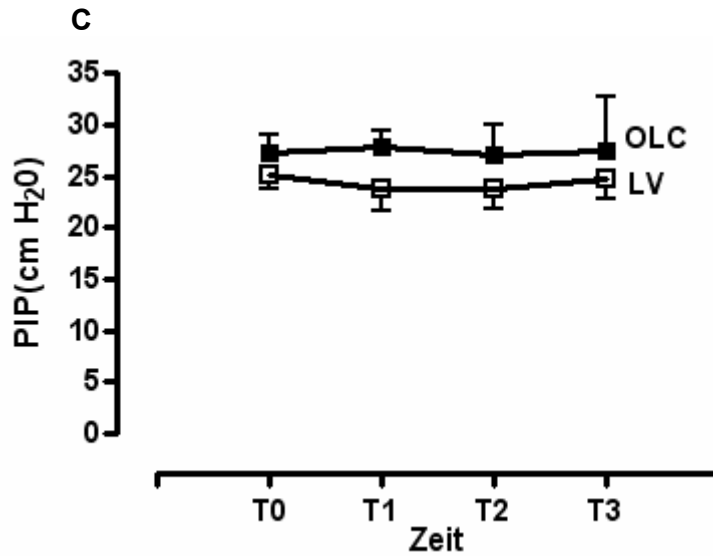


Abb. 7

Tidalvolumen ( $V_T$ ) (A), Atemfrequenz (AF) (B) und inspiratorischer Spitzendruck (PIP) (C) bei LV- vs. LV/OLC-beatmeten ALI/ARDS Patienten. T0, bei Studienbeginn, T1, nach 24 h, T2, nach 48 h, T3, nach 72 h. Dargestellt sind Mittelwert  $\pm$  SEM.

### 3.2.4 Hämodynamikparameter

Bei den Patienten beider Gruppen zeigten sich über den gesamten Studienverlauf keine signifikanten Abweichungen des mittleren arteriellen Blutdruckes (Abb. 8A) und der Herzfrequenz (Abb. 8B) von den Ausgangswerten. Das unter 2.2.2.2 beschriebene Rekrutierungsmanöver wurde von den Patienten hämodynamisch toleriert und musste zu keinem Zeitpunkt abgebrochen werden.

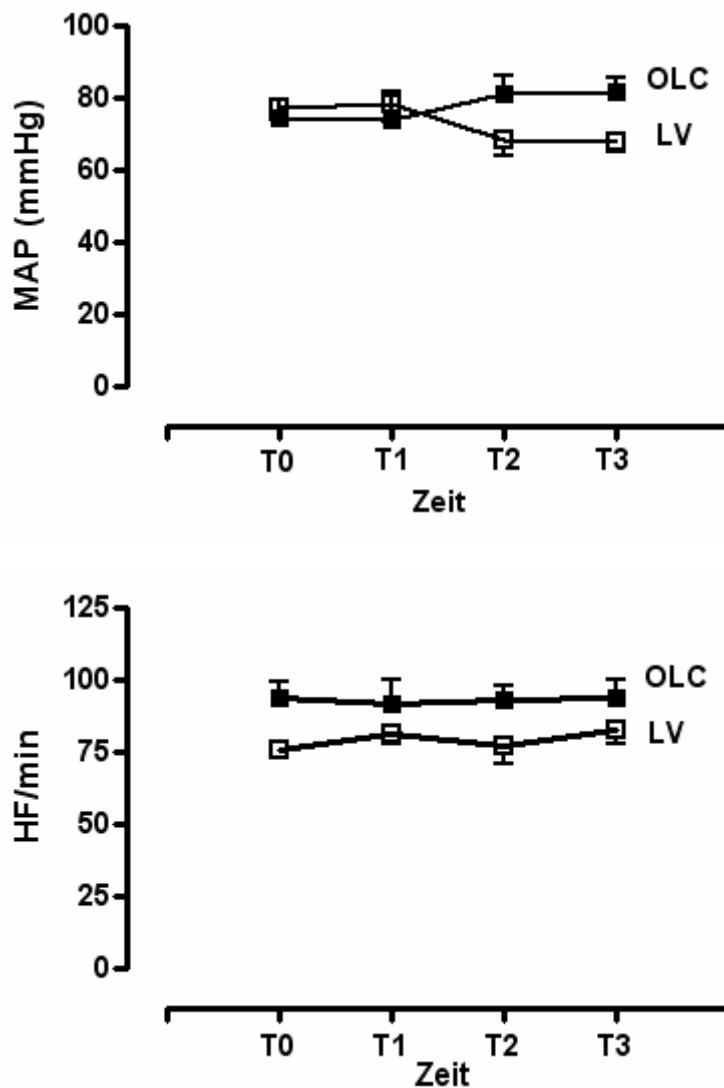


Abb. 8

**Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP) (A) und Herzfrequenz (B) bei LV- vs. LV/OLC-beatmeten ALI/ARDS Patienten.** T0, bei Studienbeginn, T1, nach 24 h, T2, nach 48 h, T3, nach 72 h. Dargestellt sind Mittelwert  $\pm$  SEM.

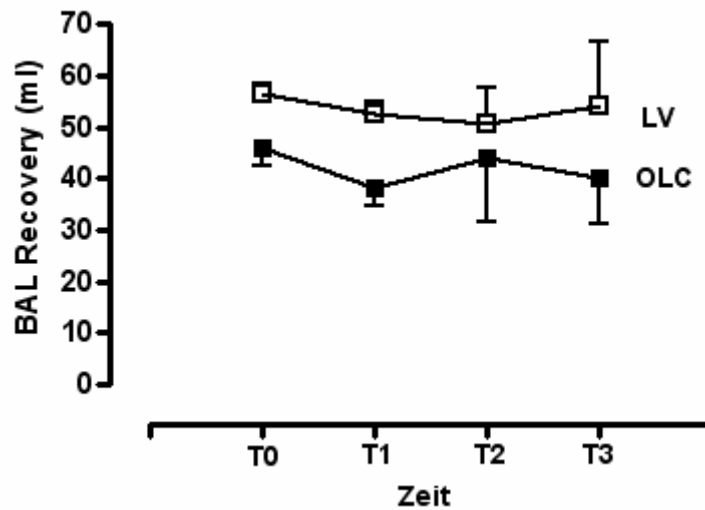
### 3.2.5 BAL Differenzialzytologie

Die unter 2.2.3 genannten BAL Abbruchkriterien wurden in keinem Fall erreicht.

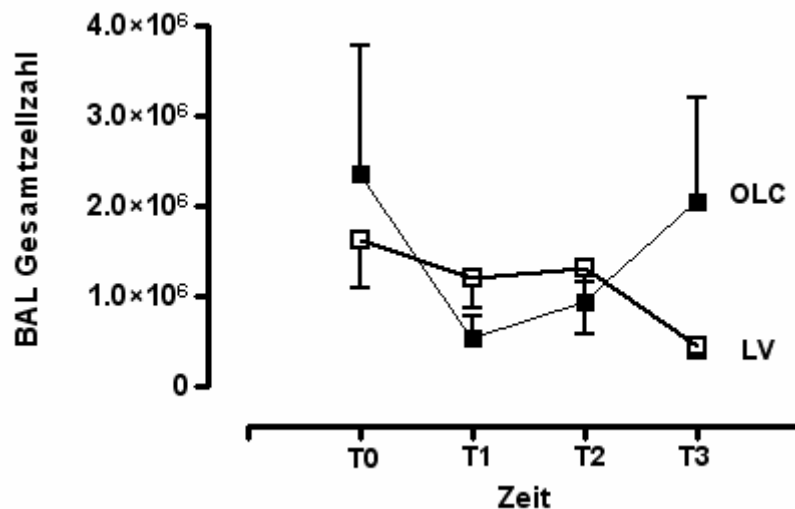
Die BAL Recovery (Abb. 9A) bei Studienbeginn war mit  $56 \pm 4.7$  ml in der LV-Gruppe etwas höher als in der LV/OLC-Gruppe mit  $46 \pm 6.1$  ml und blieb in der LV-Gruppe über den Studienverlauf geringfügig höher als in der LV/OLC-Gruppe. Die BAL Gesamtzellzahlen (Abb. 9B) zeigten in der LV/OLC-Gruppe eine grosse Varianz und

keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen oder im Verlauf der Studie. Der prozentuale Anteil von Alveolarmakrophagen an der Gesamtzellpopulation (Abb. 9C) war in der LV-Gruppe bei Studienbeginn  $73 \pm 12 \%$  und am Studienende  $88 \pm 7 \%$ . In der LV/OLC-Gruppe lag der prozentuale Anteil von Alveolarmakrophagen initial bei  $54 \pm 18 \%$  und am Studienende bei  $47 \pm 14 \%$  und damit signifikant ( $p < 0.05$ ) niedriger als in der LV-Gruppe. Innerhalb der beiden Gruppen gab es keine signifikanten Veränderungen des Alveolarmakrophagenanteils im Zeitverlauf. Der Prozentsatz der polymorphkernigen Neutrophilen war entsprechend gegenläufig (Abb.9D).

A

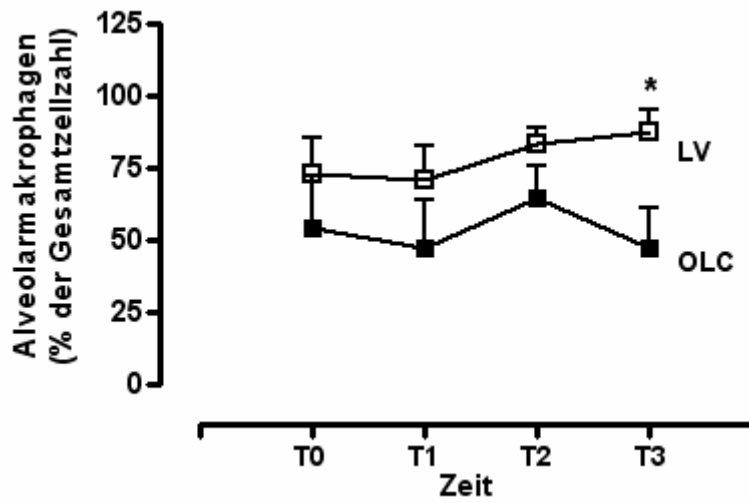


B





C



D

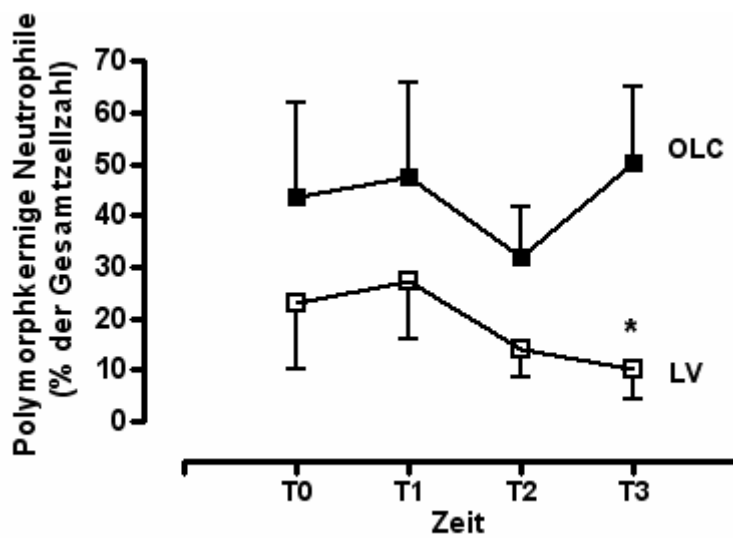


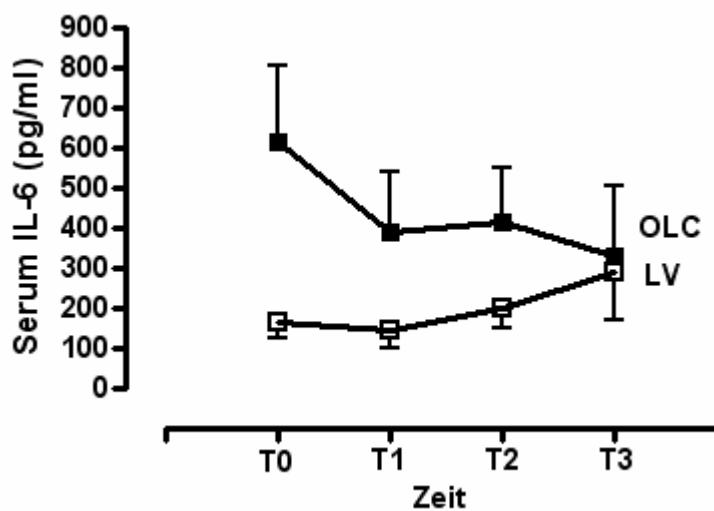
Abb. 9

BAL Recovery (A), Gesamtzellzahl (B), Alveolarmakrophagen (% der Gesamtzellzahl) (C) und Neutrophile (% der Gesamtzellzahl) (D) bei LV- vs. LV/OLC-beatmeten ALI/ARDS Patienten. T0, bei Studienbeginn, T1, nach 24 h, T2, nach 48 h, T3, nach 72 h. Dargestellt sind Mittelwert  $\pm$  SEM. \*  $p < 0.05$  LV vs LV/OLC

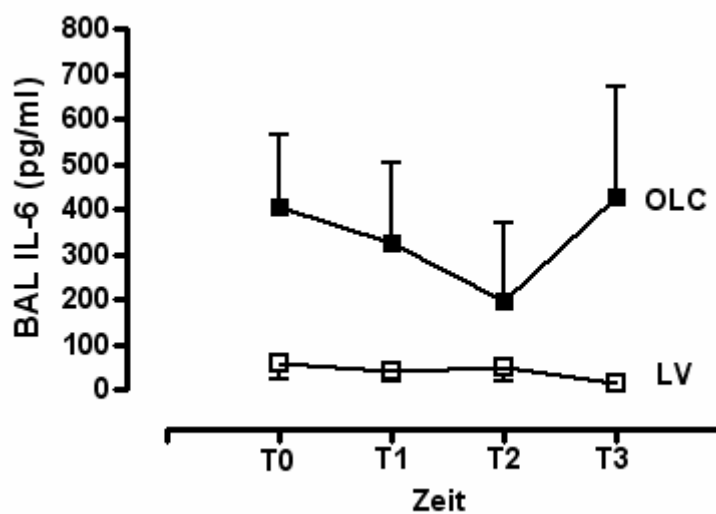
### 3.2.6 Pulmonales und systemisches Zytokinprofil

Die initialen Konzentrationen von IL-6 waren sowohl im Serum (Abb.10 A) als auch in der BAL (Abb.10 B) in der LV/OLC-Gruppe deutlich höher als in der LV-Gruppe. Aufgrund der grossen interindividuellen Varianz bei den LV/OLC-Patienten waren die Unterschiede zwischen den Gruppen nicht signifikant. Die IL-6 Serumkonzentration in der LV/OLC-Gruppe sank von  $614 \pm 189$  pg/ml zu Beginn der Studie auf  $332 \pm 171$  pg/ml nach 72 h. In der LV-Gruppe stieg die IL-6 Konzentration im Serum von  $139 \pm 43$  pg/ml bei Studienbeginn auf  $291 \pm 118$  pg/ml nach 72 h (Abb. 10A). Tendenzielle Veränderungen der BAL IL-6 Level im zeitlichen Verlauf wurden nicht beobachtet (Abb.10 B).

A



B

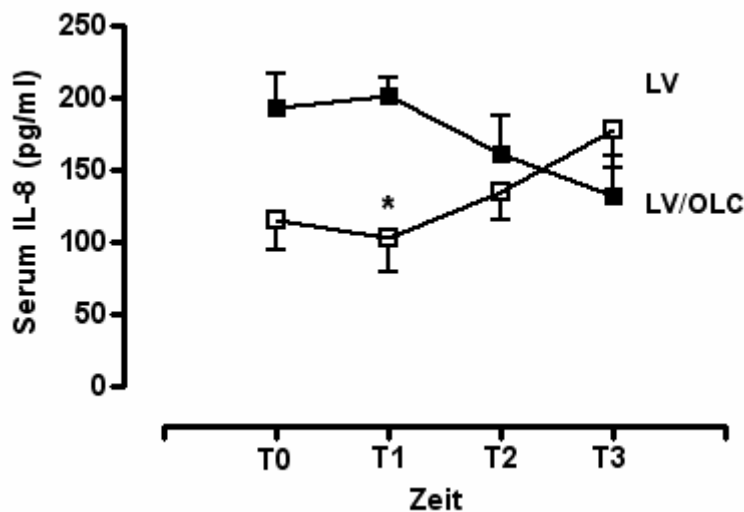


**Abb. 10**

**IL-6 Konzentrationen im Serum (A) und in der BAL (B) LV- vs. LV/OLC- beatmeter ALI/ARDS Patienten.** T0, bei Studienbeginn, T1, nach 24 h, T2, nach 48 h, T3, nach 72 h. Dargestellt sind Mittelwert  $\pm$  SEM.

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der IL-8 Serumkonzentration zwischen den Gruppen bei Studienbeginn noch innerhalb der Gruppen im Studienverlauf. 24 h nach Studienbeginn war die Serum IL-8 Konzentration in der LV-Gruppe signifikant ( $p < 0.05$ ) niedriger als in der LV/OLC-Gruppe. Nach 72 h war die Serum IL-8 Konzentration in der LV-Gruppe tendenziell wieder gestiegen und in der LV/OLC-Gruppe tendenziell reduziert (Abb. 11 A).

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der IL-8 BAL Konzentration zwischen den Gruppen bei Studienbeginn noch innerhalb der Gruppen im zeitlichen Verlauf. Nach 72 h war die IL-8 Konzentration in der LV-Gruppe signifikant ( $p < 0.05$ ) niedriger als in der LV/OLC-Gruppe.

**A**

B

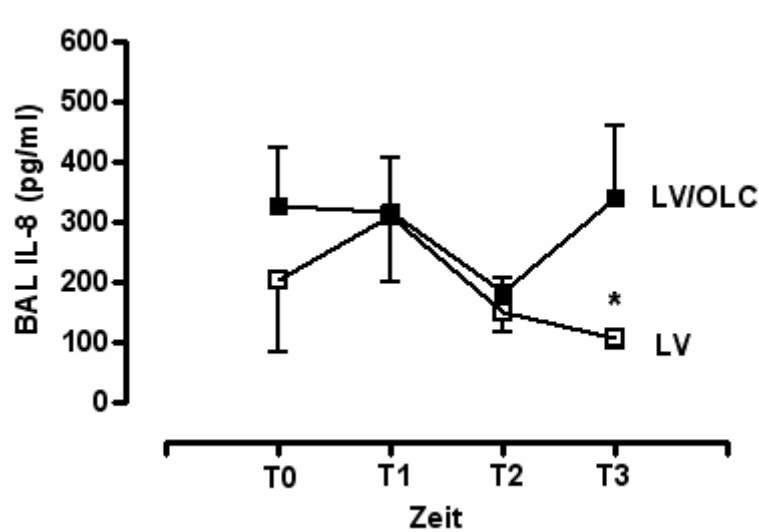
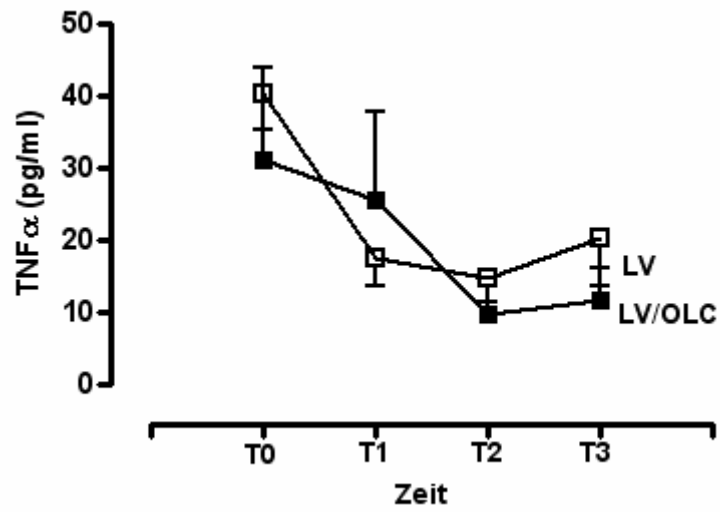


Abb. 11

**IL-8 Konzentrationen im Serum (A) und in der BAL (B) LV- vs LV/OLC-beatmeter****Patienten.** T0, bei Studienbeginn, T1, nach 24 h, T2, nach 48 h, T3, nach 72 h.Dargestellt sind Mittelwert  $\pm$  SEM.

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der systemischen TNF- $\alpha$  Konzentration zwischen den Gruppen bei Studienbeginn noch im zeitlichen Verlauf (Abb.12). Tendenziell nahm die systemische TNF- $\alpha$  Konzentration in beiden Behandlungsgruppen ab. Der TNF- $\alpha$  Level in der LV/OLC-Gruppe lag initial bei  $31.11 \pm 12.69$  pg/ml und fiel auf  $11.61 \pm 4.54$  pg/ml bei Studienende. Der TNF- $\alpha$  Level in der LV-Gruppe lag initial bei  $40.29 \pm 4.86$  pg/ml und  $20.27 \pm 6.49$  pg/ml bei Studienende. Bronchoalveoläre TNF- $\alpha$  Konzentrationen waren nicht detektierbar.



**Abb. 12 TNF- $\alpha$  Konzentrationen im Serum LV- vs LV/OLC-beatmeter Patienten.** T0, bei Studienbeginn, T1, nach 24 h, T2, nach 48 h, T3, nach 72 h. Dargestellt sind Mittelwert  $\pm$  SEM.

### 3.2.7 DNA-Bindungsaktivität von NF- $\kappa$ B in alveolären Zellen

Bei Studienbeginn unterschied sich die NF- $\kappa$ B DNA-Bindungsaktivität in Nuklearextrakten alveolärer Zellen zwischen den Patientengruppen nicht (Abb. 13A). Nach 72 h zeigte sich im Vergleich zu den LV-Patienten eine deutliche Abnahme der NF- $\kappa$ B Aktivität bei den LV/OLC-Patienten.

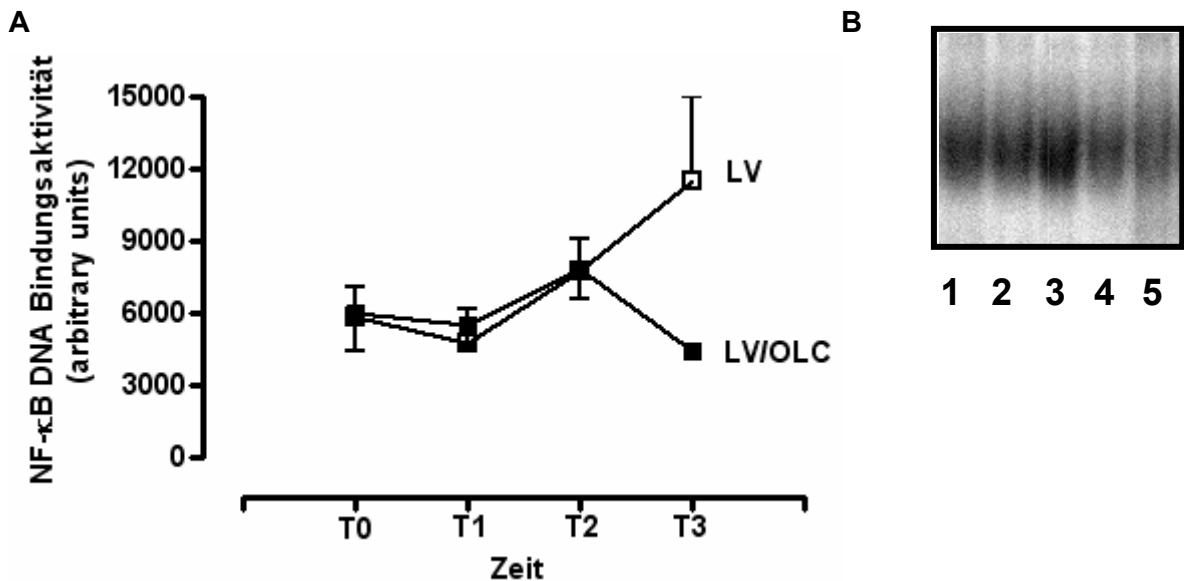


Abb. 13

**(A) NF- $\kappa$ B DNA Bindungsaktivität in Nuklearextrakten alveolärer Zellen**

**LV- vs. LV/OLC-beatmeter ALI/ARDS Patienten.** T0, bei Studienbeginn, T1, nach 24 h, T2, nach 48 h, T3, nach 72 h. Dargestellt sind Mittelwert  $\pm$  SEM. **(B)** Repräsentativer EMSA eines Patienten aus der LV/OLC-Gruppe. Spur 1, T0; Spur 2, T1; Spur 3, T2; Spur 4, T3; Spur 5, Kontrollpatient.

## 4 Diskussion

### 4.1 Effekt der mechanischen Ventilation mit ZEEP versus PEEP auf die pulmonale Inflammation lungengesunder Patienten

Das Ziel dieser prospektiv randomisierten Studie war es, den Effekt des end-expiratorischen Beatmungsdruckes auf die Aktivierung des zentralen Transkriptionsfaktors NF- $\kappa$ B in Nuklearextrakten von Alveolarmakrophagen lungengesunder Patienten zu bestimmen.

Unter physiologischen Bedingungen konstituieren Alveolarmakrophagen 90 % der residenten alveolären Zellen und haben eine Schlüsselposition in der Aufrechterhaltung der immunologischen Lungenhomöostase. Ihre zentrale Rolle auch unter pathophysiologischen Bedingungen wie ARDS und beatmungsinduziertem Lungenschaden ist Gegenstand zahlreicher Studien (14; 26; 52; 64; 83; 93).

Die vorliegende Studie zeigte, dass eine ZEEP Beatmung keine pro-inflammatorischen Konsequenzen im Sinne einer Steigerung der DNA Bindungsaktivität von NF- $\kappa$ B hat. Kirchner und Mitarbeiter konnten zeigen, dass die Beatmung isoliert perfundierter Kaninchenlungen sowohl mit ZEEP als auch mit hohem PEEP im Vergleich zur Beatmung mit kontinuierlich adjustiertem PEEP zu einer signifikanten Erhöhung der Aktivität von NF- $\kappa$ B und Aktivatorprotein-1 (AP-1) im Gesamtlungengewebe führt (43). Auch die mechanische Ventilation von humanen Makrophagen in einem *in vitro* Model zyklischer Druckdehnung resultierte in einer Aktivierung von NF- $\kappa$ B und zur Freisetzung pro-inflammatorischer Zytokine (74). Alveoläre Überdehnung durch Beatmung führte auch in isoliert perfundierten Mauslungen zu einer NF- $\kappa$ B Aktivierung (36). In der vorliegenden Studie zeigte sich diesen Untersuchungen gegenüber kein Unterschied in der DNA-Bindungsaktivität von NF- $\kappa$ B zwischen den PEEP- und ZEEP-beatmeten Patienten. Dieser Befund lässt vermuten, dass der pro-inflammatorische Stimulus einer perioperativen Beatmung mit oder ohne PEEP bei lungengesunden Patienten gering ist. Da die mikrobiologischen Befunde der untersuchten Bronchiallavagen negativ waren, ist nicht von einer *in situ* Prästimulation auszugehen.

Da sowohl bei den PEEP- als auch bei den ZEEP-beatmeten Patienten die NF- $\kappa$ B Aktivierung bei ungefähr 50% der *in vitro* LPS-induzierten NF- $\kappa$ B Aktivierung lag, deutet dies darauf hin, dass Beatmung *per se* ein pro-inflammatorischer Stimulus ist. Eine vergleichbare pro-inflammatorische Reaktion wurde bei Kindern, die sich einer diagnostischen Herzkatheterisierung unterziehen mussten, beschrieben (73). Mögliche Ursachen für den Anstieg der NF- $\kappa$ B Aktivierung sind die Anästhesiemedikation, die Ventilation *per se*, die chirurgischen Maßnahmen oder eine Kombination dieser Faktoren.

Zahlreiche Untersuchungen zeigen, dass Art und Dauer des Anästhesieverfahrens einen deutlichen Effekt auf das Profil der inflammatorischen Antwort hat (47; 88).

Brégeon und Mitarbeiter konnten zeigen, dass die 6-stündige Beatmung gesunder Hasenlungen zu einer gesteigerten Genaktivierung von MCP-1, TNF- $\alpha$  und IL-1 $\beta$  führt (15). Diesem Befund vergleichbar konnten Anstiege alveolärer MIP-2 Konzentrationen in Rattenlungen nach 90 min und nach 4 h Ventilation mit einem PEEP von 3 cm H<sub>2</sub>O und einem PIP von 13 cm H<sub>2</sub>O nachgewiesen werden (34). Zusammengefasst unterstützen diese Studien die vorliegende Untersuchung dahingehend, dass jede Form der mechanischen Ventilation eine pro-inflammatorische pulmonale Reaktion induzieren kann. In der vorliegenden Untersuchung stellt die mechanische Ventilation von lungengesunden Patienten *per se* einen nur schwachen pro-inflammatorischen Stimulus für die Aktivierung residenter Alveolarmakrophagen dar.



#### **4.2 Effekt der mechanischen Beatmung nach dem OLC auf die pulmonale und systemische Inflammation bei ALI/ARDS Patienten**

Die Tatsache, dass konventionelle Beatmungsstrategien ein pulmonales Biotrauma auslösen können, führte zur Konzeptualisierung lungenschonender Beatmungsschemata. Die dem Biotrauma zugrunde liegenden zellulären Mechanismen sind Gegenstand aktueller Forschungskonzepte (53).

Eine erhöhte Überlebensrate von ARDS Patienten ist unter Beatmung mit niedrigen Tidalvolumina gezeigt worden (1). Diese als protektive Ventilation bezeichnete Beatmungsstrategie ist mit niedrigeren Konzentrationen pro-inflammatorischer Zytokine assoziiert als konventionelle Beatmung (1; 78; 98). Konsequenter Weise ist eine Beatmung von ARDS Patienten mit niedrigem Tidalvolumen empfohlen worden (17), obwohl diese Beatmungsstrategie ein alveoläres De-Rekrutment und eine Verschlechterung des Gasaustausches implizieren kann (12; 70; 81). Das repetitive Rekrutieren atelektatischer Lungenbezirke nach dem Open-Lung-Concept stellt eine vielversprechende therapeutische Option dar, um dieser potentiell nachteiligen Nebenwirkung entgegenzuwirken (4; 9; 51; 85).

Es ist jedoch davon auszugehen, dass das Rekrutierungsmanöver, obwohl es den Gasaustausch verbessern kann, *via* Dehnung der Lunge bis zur Vitalkapazität einen erheblichen Dehnungsstress auf das Lungenparenchym ausübt. Somit bezieht sich ein wichtiges Argument gegen die Applikation des Rekrutierungsmanövers auf die Höhe des Spitzendrucks, der *per se* dem Prinzip einer protektiven Beatmung zu widersprechen scheint. Da Alveolarmakrophagen als Antwort auf Dehnung pro-inflammatorische Zytokine freisetzen (74), ist ein durch das Rekrutierungsmanöver induziertes Biotrauma nicht ausgeschlossen. Zahlreiche aktuelle Studien zum Alveolarrekrutment bei ARDS Patienten belegen positive Effekte der Massnahme auf Gasaustausch- und Oxygenierungsparameter (20; 21; 28; 32; 63; 82). Ein einmalig durchgeführtes Rekrutierungsmanöver bei Intensivpatienten mit radiologisch nachgewiesenen Atelektasen hat keinen Effekt auf die Freisetzung systemischer pro- oder anti-inflammatorischer Zytokine (75). Prospektive, randomisierte klinische Studien zu den Effekten des intermittierenden Alveolarrekrutments auf die pulmonale inflammatorische Immunantwort bei ARDS Patienten fehlen jedoch.

In der vorliegenden Untersuchung änderte sich im Verlauf der Studiendauer die Höhe des APACHE-II-Scores bei den LV-Patienten nicht. Bei den LV/OLC-Patienten zeigte sich nach 72 h eine deutliche, wenn auch nicht signifikante Reduktion des APACHE-II-Scores.

Die Patienten der LV/OLC-Gruppe hatten demnach tendenziell eine bessere individuelle Mortalitätsprognose im Studienverlauf als die konventionell beatmeten Patienten. Untersuchungen über die Veränderung des APACHE-II-Scores schwerkranker Patienten unter LV/OLC-Beatmung liegen in der Literatur nicht vor.

Der Lung-Injury-Score hatte sich in beiden Patientengruppen im Studienverlauf signifikant zur Ausgangssituation verbessert. Diese Verbesserung war in der LV/OLC-Gruppe bereits nach 48 h und damit früher als in der LV-Gruppe nachweisbar. Der Oxygenierungsindex zeigte jedoch nur in der LV/OLC-Gruppe eine tendenzielle Verbesserung. Obwohl im Rahmen der vorliegenden Studie keine computertomographischen Kontrollen zur Visualisierung einer Atelektasenrekutierung durchgeführt worden sind, ist von der Effizienz der Massnahme bezogen auf den Oxygenierungszustand auszugehen. In Modellstudien sekundärer Surfactantdefizienz konnte gezeigt werden, dass eine Beatmung nach dem OLC den Gasaustausch verbessert und den Ventilator-induzierten Lungenschaden reduziert (102; 103). In einem experimentellen Modell des neonatalen ARDS konnte gezeigt werden, dass eine Beatmung nach dem OLC verglichen mit konventioneller Beatmung *plus* Surfactanttherapie in Bezug auf Gasaustauschparameter und Lungenfunktion gleichermaßen effektiv ist (37). Darüber hinaus zeigte sich in dieser Studie kein Unterschied in der mRNA Expression pro-inflammatorischer Zytokine zwischen den genannten Ventilations- und/oder Therapiegruppen.

Im Rahmen der vorliegenden Studie tolerierten die ALI/ARDS Patienten das Rekrutierungsmanöver hämodynamisch gut. In einer prospektiv randomisierten transösophagealen Echo-Doppler Studie an kardiochirurgischen Patienten konnte gezeigt werden, dass eine OLC-Ventilation keinen Einfluss auf die rechtsventrikuläre Auswurfleistung hat (80). Ebenso hat das OLC Manöver keinen nachteiligen Effekt auf das rechtsventrikuläre Afterload, gemessen als pulmonalvaskuläre Resistance und rechtsventrikuläre Ejektionsfraktion (79). Die Beatmung nach dem LV/OLC hatte keinen Effekt auf Tidalvolumen, Atemfrequenz und inspiratorischen Spitzendruck im Vergleich zur LV-Gruppe.

In der bereits zitierten, größten Studie zur lungenprotektiven Beatmung von ARDS Patienten konnte durch niedrige Tidalvolumina eine Senkung der Mortalität um 22 %, und eine verkürzte Beatmungsdauer erreicht werden (1). Dieser Verlauf korrelierte mit einem Abfall der IL-6 Serumkonzentration von im Mittel 300 pg/ml bei Studienbeginn auf 100 pg/ml nach drei Tagen. Die relativ hohe ARDS Letalität wird nicht primär durch eine respiratorische Globalinsuffizienz, sondern durch die Entwicklung eines Multiorganversagens determiniert (66), für das pathomechanistisch zahlreiche

systemische Mediatoren verantwortlich sind. In zahlreichen Untersuchungen zeigten sich Korrelationen zwischen Serum- und/oder BAL Konzentrationen von IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  und IL-8 und der Entwicklung eines Multiorganversagens sowie der ARDS Letalität (10; 59; 71; 100), andere Studien konnten diesen Zusammenhang nicht bestätigen (42). Nicht im klinischen Alltag, wohl aber in klinischen Studien hat sich jedoch die Bestimmung dieser Parameter zur Erfassung und Progredienz eines Lungenversagens etabliert. In der vorliegenden Studie zeigte sich parallel zu verbesserten APACHE-II- und LIS-Scores bei den LV/OLC-Patienten eine kontinuierliche Abnahme des ausgeprägt pro-inflammatorischen (33; 44) Serum IL-6 im Studienverlauf. Die in der vorliegenden Studie beobachtete und in der Literatur beschriebene (10) grosse interindividuelle Varianz der Serum IL-6 Konzentrationen von Patienten mit ARDS macht eine Interpretation schwierig. Da die systemischen Effekte von IL-6 die Induktion von Fieber und die Expression von C-reaktivem Protein umfassen, könnte dies, zumindest teilweise, die mit der rückläufigen systemischen IL-6 Konzentration einhergehende Reduktion der APACHE-Scores bei den LV/OLC-Patienten erklären. Die systemischen TNF- $\alpha$  Konzentration lagen im Bereich der in der Literatur beschriebenen Konzentrationsbereiche für ARDS Frühstadien (3; 92; 99). Der tendenzielle Verlauf der im Vergleich zur Literatur (23) niedrigen systemischen IL-8 Konzentrationen war in beiden Behandlungsgruppen dem der IL-6 Konzentrationen analog. Bronchoalveoläres IL-8 ist der primäre chemotaktische Faktor für PMN bei ARDS Patienten (2; 31; 49; 76) und korreliert mit dem Ausmass einer bronchoalveolären Neutrophilie, nicht aber mit dem Ausmass des Lungenschadens oder dem weiteren klinischen Verlauf (31). Auch in der vorliegenden Studie war der zeitliche Verlauf der BAL IL-8 Konzentrationen beider Behandlungsgruppen, ebenfalls niedriger als in publizierten Daten (19; 23), deutlich assoziiert mit dem der PMN Akkumulation in der BAL. Die bronchoalveoläre Neutrophilie der LV/OLC-Patienten ging aber nicht mit einer erhöhten, sondern einer im Vergleich zu den LV-Patienten reduzierten DNA-Bindungsaktivität von NF- $\kappa$ B einher, sodass nicht von einem gesteigerten Aktivierungsgrad der Zellen ausgegangen werden kann.

Die im Rahmen dieser Studie vorgelegten Ergebnisse können aufgrund der geringen Patientanzahl nur als Trend gewertet werden. Das hier tendenziell angedeutete Ergebnis könnte allerdings der erste Schritt in Richtung effektiver Rekrutierung atelektatischer Lungenbezirke bei Patienten mit ALI/ARDS darstellen. Da bei den nach dem Open-Lung-Concept beatmeten Patienten die Verbesserung des Lung-Injury-Scores mit einer Reduktion der systemischen IL-6 Konzentration und einer Reduktion der NF- $\kappa$ B Aktivierung von primär alveolären Zellen assoziiert war, kann von der Induktion eines

Biotraumas nicht ausgegangen werden. Weitere Studien über die Implementierung des OLC in bestehende Beatmungsstrategien mit prospektiver Randomisierung und ausreichender Patientenzahl sind notwendig, um eine relevante Effektivität des OLC in Bezug auf die Dauer der Beatmung, die Entwicklung eines Multiorganversagens und die ARDS Mortalität nachweisen zu können.

## 5 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit untersuchte die Effekte unterschiedlicher Beatmungsstrategien auf die Stärke der pulmonalen und systemischen inflammatorischen Immunantwort von Patienten mit unterschiedlicher pulmonaler Prädisposition. Im Studienkollektiv lungengesunder Patienten, die sich einem zeitdefinierten operativen Elektiveingriff unterzogen, wurden die Effekte einer Beatmung mit oder ohne Applikation eines positiven endexpiratorischen Beatmungsdruckes auf die Aktivierung des zentralen Transkriptionsfaktors NF- $\kappa$ B in primären Alveolarmakrophagen verglichen. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der DNA-Bindungsaktivität von NF- $\kappa$ B in Abhängigkeit von der Applikation eines positiven endexpiratorischen Beatmungsdruckes. Es ist daher davon auszugehen, dass bei lungengesunden Patienten der proinflammatorische Stimulus einer perioperativen Beatmung mit oder ohne positivem endexpiratorischen Beatmungsdruck auf die Aktivierung residenter Alveolarmakrophagen gering ist.

Im Studienkollektiv schwerkranker Intensivpatienten mit ALI/ARDS wurden die Effekte einer zeitgesteuerten und druckkontrollierten Beatmung mit niedrigen Tidalvolumina einer Strategie gegenübergestellt, die zuzüglich eine intermittierende Alveolarrekrutierung nach dem Open-Lung-Concept (OLC) umfasste. Über einen Zeitraum von drei Tagen wurde als Klassifikationssystem zur quantitativen Beurteilung des Erkrankungsschweregrades und der individuellen Prognose der Patienten der APACHE-II-Score, der Lung-Injury-Score, Ventilations-, Gasaustausch-, und Hämodynamikparameter, pulmonale und systemische Zytokinprofile, sowie die Aktivierung von NF- $\kappa$ B in alveolären Zellen vergleichend analysiert.

Die mit dem Open-Lung-Concept supplementiert beatmeten Patienten zeigten eine frühzeitige Verbesserung des Lung-Injury-Scores, die mit einer Reduktion der systemischen IL-6 Konzentration und einer Reduktion der NF- $\kappa$ B Aktivierung von primär alveolären Zellen im Studienverlauf assoziiert war. Von der Induktion eines Biotraumas durch OLC supplementierte Beatmung mit niedrigen Tidalvolumina kann daher nicht ausgegangen werden.

Weitere Studien über die Implementierung des OLC in bestehende Beatmungsstrategien mit prospektiver Randomisierung und ausreichender Patientenzahl sind notwendig, um eine relevante Effektivität des OLC in Bezug auf die Dauer der Beatmung, die Entwicklung eines Multiorganversagens und die ARDS Mortalität nachweisen zu können.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. *N Engl J Med* 342: 1301-1308, 2000.
2. **Aggarwal A, Baker CS, Evans TW and Haslam PL.** G-CSF and IL-8 but not GM-CSF correlate with severity of pulmonary neutrophilia in acute respiratory distress syndrome. *Eur Respir J* 15: 895-901, 2000.
3. **Agouridakis P, Kyriakou D, Alexandrakis MG, Prekates A, Perisinakis K, Karkavitsas N and Bouros D.** The predictive role of serum and bronchoalveolar lavage cytokines and adhesion molecules for acute respiratory distress syndrome development and outcome. *Respir Res* 3: 25, 2002.
4. **Amato MB, Barbas CS, Medeiros DM, Schettino GP, Lorenzi FG, Kairalla RA, Deheinzelin D, Morais C, Fernandes EO, Takagaki TY and .** Beneficial effects of the "open lung approach" with low distending pressures in acute respiratory distress syndrome. A prospective randomized study on mechanical ventilation. *Am J Respir Crit Care Med* 152: 1835-1846, 1995.
5. **Ashbaugh DG, Bigelow DB, Petty TL and Levine BE.** Ashbaugh DG, Bigelow DB, Petty TL, Levine BE. Acute respiratory distress in adults. *The Lancet*, Saturday 12 August 1967. *Crit Care Resusc* 7: 60-61, 2005.
6. **Auger MJ and Ross JA.** The biology of the macrophage. The macrophage. New York: Oxford University Press, 1992, p. 1-74.

7. **Baeuerle PA and Henkel T.** Function and activation of NF-kappa B in the immune system. *Annu Rev Immunol* 12: 141-179, 1994.
8. **Baldwin AS, Jr.** The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights. *Annu Rev Immunol* 14: 649-683, 1996.
9. **Barbas CS, de Mattos GF and Borges ER.** Recruitment maneuvers and positive end-expiratory pressure/tidal ventilation titration in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome: translating experimental results to clinical practice. *Crit Care* 9: 424-426, 2005.
10. **Bauer TT, Monton C, Torres A, Cabello H, Fillela X, Maldonado A, Nicolas JM and Zavala E.** Comparison of systemic cytokine levels in patients with acute respiratory distress syndrome, severe pneumonia, and controls. *Thorax* 55: 46-52, 2000.
11. **Bein T, Philipp A, Zimmermann M, Mueller T and Schmid FX.** [Extracorporeal lung assist]. *Dtsch Med Wochenschr* 132: 488-491, 2007.
12. **Bendixen HH, Hedley-Whyte J and Laver MB.** IMPAIRED OXYGENATION IN SURGICAL PATIENTS DURING GENERAL ANESTHESIA WITH CONTROLLED VENTILATION. A CONCEPT OF ATELECTASIS. *N Engl J Med* 269: 991-996, 1963.
13. **Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, Carlet J, Falke K, Hudson L, Lamy M, LeGall JR, Morris A and Spragg R.** The American-European Consensus

- Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med* 149: 818-824, 1994.
14. **Blusse van oud Alblas A and van Furth R.** Origin, Kinetics, and characteristics of pulmonary macrophages in the normal steady state. *J Exp Med* 149: 1504-1518, 1979.
15. **Bregeon F, Roch A, Delpierre S, Ghigo E, Autillo-Touati A, Kajikawa O, Martin TR, Pugin J, Portugal H, Auffray JP and Jammes Y.** Conventional mechanical ventilation of healthy lungs induced pro-inflammatory cytokine gene transcription. *Respir Physiol Neurobiol* 132: 191-203, 2002.
16. **Brismar B, Hedenstierna G, Lundquist H, Strandberg A, Svensson L and Tokics L.** Pulmonary densities during anesthesia with muscular relaxation--a proposal of atelectasis. *Anesthesiology* 62: 422-428, 1985.
17. **Brower RG and Rubenfeld GD.** Lung-protective ventilation strategies in acute lung injury. *Crit Care Med* 31: S312-S316, 2003.
18. **Choi G, Wolthuis EK, Bresser P, Levi M, van der PT, Dzoljic M, Vroom MB and Schultz MJ.** Mechanical ventilation with lower tidal volumes and positive end-expiratory pressure prevents alveolar coagulation in patients without lung injury. *Anesthesiology* 105: 689-695, 2006.
19. **Chollet-Martin S, Montravers P, Gibert C, Elbim C, Desmots JM, Fagon JY and Gougerot-Pocidal MA.** High levels of interleukin-8 in the blood and alveolar



- spaces of patients with pneumonia and adult respiratory distress syndrome. *Infect Immun* 61: 4553-4559, 1993.
20. **Cinnella G, Grasso S, Natale C, Sollitto F, Cacciapaglia M, Angiolillo M, Pavone G, Mirabella L and Dambrosio M.** Physiological effects of a lung-recruiting strategy applied during one-lung ventilation. *Acta Anaesthesiol Scand* 52: 766-775, 2008.
21. **Constantin JM, Jaber S, Futier E, Cayot-Constantin S, Verny-Pic M, Jung B, Bailly A, Guerin R and Bazin JE.** Respiratory effects of different recruitment maneuvers in acute respiratory distress syndrome. *Crit Care* 12: R50, 2008.
22. **Costable U.** Atlas der bronchoalveolären Lavage. Stuttgart, New York: Thieme, 1994, p. 12-17.
23. **Donnelly SC, Strieter RM, Kunkel SL, Walz A, Robertson CR, Carter DC, Grant IS, Pollok AJ and Haslett C.** Interleukin-8 and development of adult respiratory distress syndrome in at-risk patient groups. *Lancet* 341: 643-647, 1993.
24. **Dreyfuss D and Saumon G.** Ventilator-induced lung injury: lessons from experimental studies. *Am J Respir Crit Care Med* 157: 294-323, 1998.
25. **Falke KJ, Pontoppidan H, Kumar A, Leith DE, Geffin B and Laver MB.** Ventilation with end-expiratory pressure in acute lung disease. *J Clin Invest* 51: 2315-2323, 1972.

26. **Frank JA, Wray CM, McAuley DF, Schwendener R and Matthay MA.** Alveolar macrophages contribute to alveolar barrier dysfunction in ventilator-induced lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 291: L1191-L1198, 2006.
27. **Gajic O, Dara SI, Mendez JL, Adesanya AO, Festic E, Caples SM, Rana R, St SJ, Lymp JF, Afessa B and Hubmayr RD.** Ventilator-associated lung injury in patients without acute lung injury at the onset of mechanical ventilation. *Crit Care Med* 32: 1817-1824, 2004.
28. **Gattinoni L, Caironi P, Cressoni M, Chiumello D, Ranieri VM, Quintel M, Russo S, Patroniti N, Cornejo R and Bugedo G.** Lung recruitment in patients with the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 354: 1775-1786, 2006.
29. **Gattinoni L, Pesenti A, Bombino M, Baglioni S, Rivolta M, Rossi F, Rossi G, Fumagalli R, Marcolin R, Mascheroni D and .** Relationships between lung computed tomographic density, gas exchange, and PEEP in acute respiratory failure. *Anesthesiology* 69: 824-832, 1988.
30. **Girard TD and Bernard GR.** Mechanical ventilation in ARDS: a state-of-the-art review. *Chest* 131: 921-929, 2007.
31. **Goodman RB, Strieter RM, Martin DP, Steinberg KP, Milberg JA, Maunder RJ, Kunkel SL, Walz A, Hudson LD and Martin TR.** Inflammatory cytokines in patients with persistence of the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 154: 602-611, 1996.

32. **Grasso S, Stripoli T, De MM, Bruno F, Moschetta M, Angelelli G, Munno I, Ruggiero V, Anaclerio R, Cafarelli A, Driessen B and Fiore T.** ARDSnet ventilatory protocol and alveolar hyperinflation: role of positive end-expiratory pressure. *Am J Respir Crit Care Med* 176: 761-767, 2007.
33. **Hack CE, De Groot ER, Felt-Bersma RJ, Nuijens JH, Strack van Schijndel RJ, Eerenberg-Belmer AJ, Thijs LG and Aarden LA.** Increased plasma levels of interleukin-6 in sepsis. *Blood* 74: 1704-1710, 1989.
34. **Haitsma JJ, Uhlig S, Verbrugge SJ, Goggel R, Poelma DL and Lachmann B.** Injurious ventilation strategies cause systemic release of IL-6 and MIP-2 in rats in vivo. *Clin Physiol Funct Imaging* 23: 349-353, 2003.
35. **Hamacher J, Lucas R, Lijnen HR, Buschke S, Dunant Y, Wendel A, Grau GE, Suter PM and Ricou B.** Tumor necrosis factor-alpha and angiostatin are mediators of endothelial cytotoxicity in bronchoalveolar lavages of patients with acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 166: 651-656, 2002.
36. **Held HD, Boettcher S, Hamann L and Uhlig S.** Ventilation-induced chemokine and cytokine release is associated with activation of nuclear factor-kappaB and is blocked by steroids. *Am J Respir Crit Care Med* 163: 711-716, 2001.
37. **Hilgendorff A, Aslan E, Schaible T, Gortner L, Baehner T, Ebsen M, Kreuder J, Ruppert C, Guenther A and Reiss I.** Surfactant replacement and open lung concept--comparison of two treatment strategies in an experimental model of neonatal ARDS. *BMC Pulm Med* 8: 10, 2008.

38. **Hirani N, Antonicelli F, Strieter RM, Wiesener MS, Ratcliffe PJ, Haslett C and Donnelly SC.** The regulation of interleukin-8 by hypoxia in human macrophages-- a potential role in the pathogenesis of the acute respiratory distress syndrome (ARDS). *Mol Med* 7: 685-697, 2001.
39. **Holt PG.** Down-regulation of immune responses in the lower respiratory tract: the role of alveolar macrophages. *Clin Exp Immunol* 63: 261-270, 1986.
40. **Hyers TM, Tricomi SM, Dettenmeier PA and Fowler AA.** Tumor necrosis factor levels in serum and bronchoalveolar lavage fluid of patients with the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 144: 268-271, 1991.
41. **Jorens PG, Van DJ, De BW, Bossaert L, De Jongh RF, Herman AG and Rampart M.** Interleukin 8 (IL-8) in the bronchoalveolar lavage fluid from patients with the adult respiratory distress syndrome (ARDS) and patients at risk for ARDS. *Cytokine* 4: 592-597, 1992.
42. **Kiehl MG, Ostermann H, Thomas M, Muller C, Cassens U and Kienast J.** Inflammatory mediators in bronchoalveolar lavage fluid and plasma in leukocytopenic patients with septic shock-induced acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 26: 1194-1199, 1998.
43. **Kirchner EA, Mols G, Hermle G, Muehlschlegel JD, Geiger KK, Guttman J and Pahl HL.** Reduced activation of immunomodulatory transcription factors during positive end-expiratory pressure adjustment based on volume-dependent compliance in isolated perfused rabbit lungs. *Br J Anaesth* 94: 530-535, 2005.

44. **Kishimoto T.** The biology of interleukin-6. *Blood* 74: 1-10, 1989.
45. **Knaus WA, Draper EA, Wagner DP and Zimmerman JE.** APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 13: 818-829, 1985.
46. **Knaus WA, Zimmerman JE, Wagner DP, Draper EA and Lawrence DE.** APACHE-acute physiology and chronic health evaluation: a physiologically based classification system. *Crit Care Med* 9: 591-597, 1981.
47. **Kotani N, Hashimoto H, Sessler DI, Kikuchi A, Suzuki A, Takahashi S, Muraoka M and Matsuki A.** Intraoperative modulation of alveolar macrophage function during isoflurane and propofol anesthesia. *Anesthesiology* 89: 1125-1132, 1998.
48. **Kumar A, Falke KJ, Geffin B, Aldredge CF, Laver MB, Lowenstein E and Pontoppidan H.** Continuous positive-pressure ventilation in acute respiratory failure. *N Engl J Med* 283: 1430-1436, 1970.
49. **Kunkel SL, Standiford T, Kasahara K and Strieter RM.** Interleukin-8 (IL-8): the major neutrophil chemotactic factor in the lung. *Exp Lung Res* 17: 17-23, 1991.
50. **Lachmann B.** Open up the lung and keep the lung open. *Intensive Care Med* 18: 319-321, 1992.
51. **Lapinsky SE and Mehta S.** Bench-to-bedside review: Recruitment and recruiting maneuvers. *Crit Care* 9: 60-65, 2005.

52. **Lentsch AB, Czermak BJ, Bless NM, Van RN and Ward PA.** Essential role of alveolar macrophages in intrapulmonary activation of NF-kappaB. *Am J Respir Cell Mol Biol* 20: 692-698, 1999.
53. **Lionetti V, Recchia FA and Ranieri VM.** Overview of ventilator-induced lung injury mechanisms. *Curr Opin Crit Care* 11: 82-86, 2005.
54. **Lundquist H, Hedenstierna G, Strandberg A, Tokics L and Brismar B.** CT-assessment of dependent lung densities in man during general anaesthesia. *Acta Radiol* 36: 626-632, 1995.
55. **Magnusson L and Spahn DR.** New concepts of atelectasis during general anaesthesia. *Br J Anaesth* 91: 61-72, 2003.
56. **Markgraf R, Deutschinoff G, Pientka L, Scholten T and Lorenz C.** Performance of the score systems Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II and III at an interdisciplinary intensive care unit, after customization. *Crit Care* 5: 31-36, 2001.
57. **Maruscak AA, Vockeroth DW, Girardi B, Sheikh T, Possmayer F, Lewis JF and Veldhuizen RA.** Alterations to surfactant precede physiological deterioration during high tidal volume ventilation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 294: L974-L983, 2008.
58. **Maus U, Rosseau S, Knies U, Seeger W and Lohmeyer J.** Expression of pro-inflammatory cytokines by flow-sorted alveolar macrophages in severe pneumonia. *Eur Respir J* 11: 534-541, 1998.

59. **Meduri GU, Headley S, Kohler G, Stentz F, Tolley E, Umberger R and Leeper K.** Persistent elevation of inflammatory cytokines predicts a poor outcome in ARDS. Plasma IL-1 beta and IL-6 levels are consistent and efficient predictors of outcome over time. *Chest* 107: 1062-1073, 1995.
60. **Mercat A, Richard JC, Vielle B, Jaber S, Osman D, Diehl JL, Lefrant JY, Prat G, Richecoeur J, Nieszkowska A, Gervais C, Baudot J, Bouadma L and Brochard L.** Positive end-expiratory pressure setting in adults with acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *JAMA* 299: 646-655, 2008.
61. **Michelet P, D'Journo XB, Roch A, Doddoli C, Marin V, Papazian L, Decamps I, Bregeon F, Thomas P and Auffray JP.** Protective ventilation influences systemic inflammation after esophagectomy: a randomized controlled study. *Anesthesiology* 105: 911-919, 2006.
62. **Milberg JA, Davis DR, Steinberg KP and Hudson LD.** Improved survival of patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS): 1983-1993. *JAMA* 273: 306-309, 1995.
63. **Minkovich L, Djaiani G, Katznelson R, Day F, Fedorko L, Tan J, Carroll J, Cheng D and Karski J.** Effects of alveolar recruitment on arterial oxygenation in patients after cardiac surgery: a prospective, randomized, controlled clinical trial. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 21: 375-378, 2007.

64. **Moine P, McIntyre R, Schwartz MD, Kaneko D, Shenkar R, Le TY, Moore EE and Abraham E.** NF-kappaB regulatory mechanisms in alveolar macrophages from patients with acute respiratory distress syndrome. *Shock* 13: 85-91, 2000.
65. **Moloney ED and Griffiths MJ.** Protective ventilation of patients with acute respiratory distress syndrome. *Br J Anaesth* 92: 261-270, 2004.
66. **Montgomery AB, Stager MA, Carrico CJ and Hudson LD.** Causes of mortality in patients with the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 132: 485-489, 1985.
67. **Murray JF, Matthay MA, Luce JM and Flick MR.** An expanded definition of the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 138: 720-723, 1988.
68. **Nunn JF and PAYNE JP.** Hypoxaemia after general anaesthesia. *Lancet* 2: 631-632, 1962.
69. **Park WY, Goodman RB, Steinberg KP, Ruzinski JT, Radella F, Park DR, Pugin J, Skerrett SJ, Hudson LD and Martin TR.** Cytokine balance in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 164: 1896-1903, 2001.
70. **Patroniti N, Foti G, Cortinovis B, Maggioni E, Bigatello LM, Cereda M and Pesenti A.** Sigh improves gas exchange and lung volume in patients with acute respiratory distress syndrome undergoing pressure support ventilation. *Anesthesiology* 96: 788-794, 2002.



71. **Pinsky MR, Vincent JL, Deviere J, Alegre M, Kahn RJ and Dupont E.** Serum cytokine levels in human septic shock. Relation to multiple-system organ failure and mortality. *Chest* 103: 565-575, 1993.
72. **Plotz FB, Slutsky AS, van Vught AJ and Heijnen CJ.** Ventilator-induced lung injury and multiple system organ failure: a critical review of facts and hypotheses. *Intensive Care Med* 30: 1865-1872, 2004.
73. **Plotz FB, Vreugdenhil HA, Slutsky AS, Zijlstra J, Heijnen CJ and van VH.** Mechanical ventilation alters the immune response in children without lung pathology. *Intensive Care Med* 28: 486-492, 2002.
74. **Pugin J, Dunn I, Jolliet P, Tassaux D, Magnenat JL, Nicod LP and Chevrolet JC.** Activation of human macrophages by mechanical ventilation in vitro. *Am J Physiol* 275: L1040-L1050, 1998.
75. **Puls A, Pollok-Kopp B, Wrigge H, Quintel M and Neumann P.** Effects of a single-lung recruitment maneuver on the systemic release of inflammatory mediators. *Intensive Care Med* 32: 1080-1085, 2006.
76. **Puneet P, Moochhala S and Bhatia M.** Chemokines in acute respiratory distress syndrome. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 288: L3-15, 2005.
77. **Ranieri VM, Giunta F, Suter PM and Slutsky AS.** Mechanical ventilation as a mediator of multisystem organ failure in acute respiratory distress syndrome. *JAMA* 284: 43-44, 2000.

78. **Ranieri VM, Suter PM, Tortorella C, De TR, Dayer JM, Brienza A, Bruno F and Slutsky AS.** Effect of mechanical ventilation on inflammatory mediators in patients with acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *JAMA* 282: 54-61, 1999.
79. **Reis MD, Gommers D, Struijs A, Meeder H, Schepp R, Hop W, Bogers A, Klein J and Lachmann B.** The open lung concept: effects on right ventricular afterload after cardiac surgery. *Br J Anaesth* 93: 327-332, 2004.
80. **Reis MD, Klompe L, Mekel J, Struijs A, van BJ, Lachmann B, Bogers AJ and Gommers D.** Open lung ventilation does not increase right ventricular outflow impedance: An echo-Doppler study. *Crit Care Med* 34: 2555-2560, 2006.
81. **Richard JC, Maggiore SM, Jonson B, Mancebo J, Lemaire F and Brochard L.** Influence of tidal volume on alveolar recruitment. Respective role of PEEP and a recruitment maneuver. *Am J Respir Crit Care Med* 163: 1609-1613, 2001.
82. **Riva DR, Oliveira MB, Rzezinski AF, Rangel G, Capelozzi VL, Zin WA, Morales MM, Pelosi P and Rocco PR.** Recruitment maneuver in pulmonary and extrapulmonary experimental acute lung injury. *Crit Care Med* 36: 1900-1908, 2008.
83. **Rosseau S, Hammerl P, Maus U, Walmrath HD, Schutte H, Grimminger F, Seeger W and Lohmeyer J.** Phenotypic characterization of alveolar monocyte recruitment in acute respiratory distress syndrome. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 279: L25-L35, 2000.

84. **Rouby JJ, Constantin JM, Roberto De AG, Zhang M and Lu Q.** Mechanical ventilation in patients with acute respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* 101: 228-234, 2004.
85. **Rouby JJ and Lu Q.** Bench-to-bedside review: adjuncts to mechanical ventilation in patients with acute lung injury. *Crit Care* 9: 465-471, 2005.
86. **Rubinfeld GD.** Epidemiology of acute lung injury. *Crit Care Med* 31: S276-S284, 2003.
87. **Rubinfeld GD and Herridge MS.** Epidemiology and outcomes of acute lung injury. *Chest* 131: 554-562, 2007.
88. **Schilling T, Kozian A, Kretzschmar M, Huth C, Welte T, Buhling F, Hedenstierna G and Hachenberg T.** Effects of propofol and desflurane anaesthesia on the alveolar inflammatory response to one-lung ventilation. *Br J Anaesth* 99: 368-375, 2007.
89. **Schmidt R, Markart P, Ruppert C, Wygrecka M, Kuchenbuch T, Walmrath D, Seeger W and Guenther A.** Time-dependent changes in pulmonary surfactant function and composition in acute respiratory distress syndrome due to pneumonia or aspiration. *Respir Res* 8: 55, 2007.
90. **Schreiter D, Reske A, Stichert B, Seiwerts M, Bohm SH, Kloepfel R and Josten C.** Alveolar recruitment in combination with sufficient positive end-expiratory pressure increases oxygenation and lung aeration in patients with severe chest trauma. *Crit Care Med* 32: 968-975, 2004.

91. **Schultz MJ, Haitsma JJ, Slutsky AS and Gajic O.** What tidal volumes should be used in patients without acute lung injury? *Anesthesiology* 106: 1226-1231, 2007.
92. **Schutte H, Lohmeyer J, Rosseau S, Ziegler S, Siebert C, Kielisch H, Pralle H, Grimminger F, Morr H and Seeger W.** Bronchoalveolar and systemic cytokine profiles in patients with ARDS, severe pneumonia and cardiogenic pulmonary oedema. *Eur Respir J* 9: 1858-1867, 1996.
93. **Schwartz MD, Moore EE, Moore FA, Shenkar R, Moine P, Haenel JB and Abraham E.** Nuclear factor-kappa B is activated in alveolar macrophages from patients with acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 24: 1285-1292, 1996.
94. **Shakhov AN, Collart MA, Vassalli P, Nedospasov SA and Jongeneel CV.** Kappa B-type enhancers are involved in lipopolysaccharide-mediated transcriptional activation of the tumor necrosis factor alpha gene in primary macrophages. *J Exp Med* 171: 35-47, 1990.
95. **Sibille Y and Reynolds HY.** Macrophages and polymorphonuclear neutrophils in lung defense and injury. *Am Rev Respir Dis* 141: 471-501, 1990.
96. **Simeonidis S, Stauber D, Chen G, Hendrickson WA and Thanos D.** Mechanisms by which IkappaB proteins control NF-kappaB activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 49-54, 1999.
97. **Sinclair SE and Albert RK.** Altering ventilation-perfusion relationships in ventilated patients with acute lung injury. *Intensive Care Med* 23: 942-950, 1997.

98. **Stuber F, Wrigge H, Schroeder S, Wetegrove S, Zinserling J, Hoeft A and Putensen C.** Kinetic and reversibility of mechanical ventilation-associated pulmonary and systemic inflammatory response in patients with acute lung injury. *Intensive Care Med* 28: 834-841, 2002.
99. **Suter PM, Suter S, Girardin E, Roux-Lombard P, Grau GE and Dayer JM.** High bronchoalveolar levels of tumor necrosis factor and its inhibitors, interleukin-1, interferon, and elastase, in patients with adult respiratory distress syndrome after trauma, shock, or sepsis. *Am Rev Respir Dis* 145: 1016-1022, 1992.
100. **Takala A, Jousela I, Takkunen O, Kautiainen H, Jansson SE, Orpana A, Karonen SL and Repo H.** A prospective study of inflammation markers in patients at risk of indirect acute lung injury. *Shock* 17: 252-257, 2002.
101. **Tremblay LN and Slutsky AS.** Ventilator-induced lung injury: from the bench to the bedside. *Intensive Care Med* 32: 24-33, 2006.
102. **van Kaam AH, De JA, Haitsma JJ, van Aalderen WM, Kok JH and Lachmann B.** Positive pressure ventilation with the open lung concept optimizes gas exchange and reduces ventilator-induced lung injury in newborn piglets. *Pediatr Res* 53: 245-253, 2003.
103. **van Kaam AH, Dik WA, Haitsma JJ, De JA, Naber BA, van Aalderen WM, Kok JH and Lachmann B.** Application of the open-lung concept during positive-pressure ventilation reduces pulmonary inflammation in newborn piglets. *Biol Neonate* 83: 273-280, 2003.

104. **van Kaam AH, Lachmann RA, Herting E, De JA, van IF, Noorduyn LA, Kok JH, Haitsma JJ and Lachmann B.** Reducing atelectasis attenuates bacterial growth and translocation in experimental pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 169: 1046-1053, 2004.
105. **Ware LB and Matthay MA.** The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 342: 1334-1349, 2000.
106. **Wolthuis EK, Choi G, Delsing MC, Bresser P, Lutter R, Dzoljic M, van der PT, Vroom MB, Hollmann M and Schultz MJ.** Mechanical ventilation with lower tidal volumes and positive end-expiratory pressure prevents pulmonary inflammation in patients without preexisting lung injury. *Anesthesiology* 108: 46-54, 2008.
107. **Wrigge H, Zinserling J, Stuber F, von ST, Hering R, Wetegrove S, Hoeft A and Putensen C.** Effects of mechanical ventilation on release of cytokines into systemic circulation in patients with normal pulmonary function. *Anesthesiology* 93: 1413-1417, 2000.
108. **Yamashita C, Forbes A, Tessolini JM, Yao LJ, Lewis JF and Veldhuizen RA.** Protective effects of elevated endogenous surfactant pools to injurious mechanical ventilation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 294: L724-L732, 2008.

## 7 Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Schmucker, Direktor der Klinik für Anästhesiologie der Universität zu Lübeck und Herrn Prof. Dr. Rietschel, dem ehemaligen Direktor des Forschungszentrums Borstel, für die Bereitstellung der Arbeitsplätze und des Materials sowie für die Möglichkeit, diese Dissertation durchzuführen, bedanken.

Ganz besonders möchte ich mich bei meiner Betreuerin Frau Priv. Doz. Dr. Stamme bedanken, die mich auch in Zeiten, in denen diese Arbeit eher langsam voranging, weiterhin gefördert und durch ihre exzellente fachliche Betreuung, ihr engagiertes Interesse und ihre intensive selbstverständliche Unterstützung diese Arbeit erst ermöglicht hat. Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei Herrn Dr. Meier für sein Engagement, seine unerlässliche Mitarbeit bei der praktischen Durchführung des Studienprotokolls und für die Initiative zur Veröffentlichung der Ergebnisse. Herrn Prof. Dr. Uhlig danke ich für den konstruktiven Gedankenaustausch im Zuge dieser Arbeit.

Danke auch an Frau Papenberg und Frau Nivendiek für die gemeinsame Erhebung der klinischen Daten. Ich danke allen gegenwärtigen und ehemaligen Mitarbeitern der Klinik für Anästhesiologie der Universität zu Lübeck und den Mitarbeitern der Abteilung Immunchemie und Biochemische Mikrobiologie am Forschungszentrum Borstel, die durch ihr Verständnis und ihre Kooperation, sowie durch ihre hochqualifizierte fachliche und technische Hilfe diese Arbeit ermöglicht haben.

Vielen Dank auch an Frau Dr. Moulakakis für ihre Hilfe bei der Verarbeitung der Literaturquellen.

Weiterhin möchte ich meinen Eltern danken, die durch ihre Unterstützung mein Studium und somit diese Arbeit ermöglicht haben. Meinem Mann und meinen Kindern gilt der besondere Dank für entbehrte gemeinsame Zeit und den nie endenden Ansporn zum Weitermachen.

Mein besonderer Dank gilt den Patienten, die sich in für sie schwierigen und belastenden Situationen für die Studien zu Verfügung gestellt haben.

## 8 Publikationen

### Originalarbeit

Meier T, **Lange A**, Rose H, Ziemann M, Fentrop C, Uhlig U, Schmucker P, Uhlig S, Stamme C (2008) Pulmonary cytokine responses during mechanical ventilation of non-injured lungs with and without end-expiratory pressure. *Anesth Analg* 107(4):1265-75

### Abstracts/Poster

Meier T, Rose H, **Lange A**, Uhlig U, Stamme C, Uhlig S (2006) Effekt der Erhöhung von PEEP auf die Freisetzung von proinflammatorischen Mediatoren in der gesunden Lunge. (Abstractband Deutscher Anästhesie Congress, Leipzig)

Meier T, Rose H, **Lange A**, Uhlig U, Ziemann M, Schmucker P, Uhlig S, Stamme C (2004) Elevation of PEEP activates NFKappaB in alveolar cells and induces IL-8 release. *Intensive Care Med* 30 (Supp I): S209



## 9 Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name: Alexandra Lange  
Anschrift: Glockengießerstr. 57, 23552 Lübeck  
Telefon: 0451-70 755 70  
Geburtsdatum/-ort: Lübeck

### Bildungsweg

#### Schulischer Bildungsweg

1993 Abschluss: allgemeine Hochschulreife

#### Berufspraxis

1994-1998 Biologielaborantin, Firma Euroimmun

#### Studium

seit WS 98/99 Humanmedizin am UKSH Lübeck  
9/01 Ärztliche Vorprüfung  
3/03 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
3/05 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

#### Praktika/Auslandsaufenthalte

8/93-7/94 Essex College, Chelmsford