

# **Der Einfluss niedriger Atemhubvolumina in einem Mausmodell der systemischen Inflammation**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität  
Bonn

**Marc Rohner**

aus Siegburg

2020

Angefertigt mit der Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Pascal Knüfermann
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Martin Schlee

Tag der Mündlichen Prüfung: 07.04.2020

Aus der Klinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin der Universitätsklinik  
Bonn

Direktor: Prof. Dr. med. Andreas Hoeft

Meinen Eltern  
in Dankbarkeit gewidmet



## Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>7</b>
<b>1. Einleitung</b>	<b>9</b>
1.1 Indikation zur maschinellen Beatmung	9
1.2 Grundlagen von Atmung und Beatmung	10
1.3 Pathophysiologie der Überdruckbeatmung	12
1.3.1 Das Barotrauma	12
1.3.2 Das Volutrauma	12
1.3.3 Histologische Veränderungen im Tiermodell	13
1.3.4 Permeabilitätsstörung und Lungenschaden im Tiermodell	14
1.3.5 Auswirkungen von PEEP und Tidalvolumina (Atelectotrauma)	15
1.4 ARDS	16
1.4.1 Das akute Lungenversagen (ARDS)	16
1.4.2 Definition VILI	17
1.4.3 Wirkung auf das Immunsystem bei VILI	17
1.5 Toll-like Rezeptoren	18
1.6 Fragestellung	19
<b>2. Material und Methoden</b>	<b>20</b>
2.1 Versuchstiere und Haltungsbedingungen	20
2.2 Versuchsaufbau	20
2.2.1 Beatmungsgerät	20
2.2.2 Heizung und Wärmeplatte	21
2.2.3 Experimentelle Gruppen und Protokolle	22
2.2.4 Narkoseeinleitung und Präparation	22
2.2.5 Atemmechanische Messungen	25
2.2.6 Anästhesie und Narkose	25
2.3 Versuchsablauf	26
2.4 Beatmungsprotokoll	27
2.4.1 Low-volume Ventilation Beatmungsprotokoll (LV)	27
2.4.2 High-volume Ventilation Beatmungsprotokoll (HV)	27
2.5 Probengewinnung	28
2.5.1 Bronchoalveoläre Lavage	28

2.6	Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)	28
2.6.1	Proteinisolation	28
2.6.2	Berechnung der Zytokin- und Proteinkonzentration	29
2.7	Statistik	30
<b>3.</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>30</b>
3.1	Beatmungsparameter	30
3.1.1	Tidalvolumina	31
3.1.2	Beatmungsdruck	33
3.1.3	Atemfrequenz	35
3.1.4	Atemminutenvolumen	37
3.2	Konzentrationen der Zytokine IL-1 $\beta$ und TNF- $\alpha$ in der BAL	40
3.3	Proteinkonzentration in der bronchoalveolären Lavage	41
3.4	Blutgasanalyse	42
3.4.1	pH-Wert	42
3.4.2	Sauerstoff-Partialdruck	44
3.4.3	Kohlenstoffdioxid-Partialdruck	47
3.5	Hämodynamik	49
3.5.1	Arterieller Blutdruck	49
3.5.2	Pulsfrequenz	52
3.6	Körpertemperatur	54
<b>4.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>56</b>
<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>64</b>
<b>6.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>65</b>
<b>7.</b>	<b>Danksagung</b>	<b>75</b>

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.:	Abbildung
AF	Atemfrequenz
AHV	Atemhubvolumen
ALI	Acute Lung Injury (akute Lungenschädigung)
AMV	Atemminutenvolumen
ANOVA	analysis of variance (Varianzanalyse)
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrom (akutes Lungenversagen)
AZV	Atemzugvolumen
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BCA	Bichinonsäure
BW	Bodyweight (Körpergewicht)
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
COPD	chronic obstructive pulmonary disease (chronisch obstruktive Lungenerkrankung)
CpG	Desoxycytidin – Phosphorsäure – Desoxyguanosin Motiv
DNA	Desoxyribonucleic acid (Desoxyribonucleinsäure)
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
F <sub>i</sub> O <sub>2</sub>	inspiratorische Sauerstofffraktion
G / Ga	Gauge
HV	high volume (hohes (Hub-) Volumen)
HZV	Herzzeitvolumen
I:E	Inspirations- Expirationsverhältnis
IL-1 $\beta$	Interleukin 1 beta
IL-6	Interleukin 6
IL-8	Interleukin 8
i.p.	intraperitoneal
KG	Körpergewicht
LPS	Lipopolysaccharid
LTA	Lipoteichoic acid (Lipoteichonsäure / Ölsäure)
LV	low volume (niedriges (Hub-) Volumen)

MAP	mean arterial pressure (arterieller Mitteldruck)
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
ODN	Oligodesoxynukleotide
PMSF	Phenylmethylsulfonylfluorid
PAMP	Pathogen-associated molecular pattern (Pathogen-assoziierte molekulare Muster)
paCO <sub>2</sub>	arterieller Kohlendioxidpartialdruck
paO <sub>2</sub>	arterieller Sauerstoffpartialdruck
PBS	Phosphate buffered saline (Phosphat-gepufferte Salzlösung)
pCO <sub>2</sub>	Kohlendioxidpartialdruck
PEEP	positive end-expiratory pressure (positiver endexpiratorischer Druck)
PiP	peak inspiratory pressure (Beatmungspitzendruck)
pO <sub>2</sub>	Sauerstoffpartialdruck
SEM	standard error of the mean (Standardfehler)
SpO <sub>2</sub>	periphere Sauerstoffsättigung
TLR	Toll – like – Rezeptor
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor $\alpha$
TV	Tidalvolumen
U/min	Umdrehung pro Minute
VILI	Ventilator-induced lung injury (Beatmungs-induzierter Lungenschaden)
VT	ventilatory tidal (Tidalvolumen)



## 1. Einleitung

### 1.1 Indikation zur maschinellen Beatmung

Die maschinelle Beatmung und Atemunterstützung ist eine wichtige therapeutische Intervention bei der Versorgung von Patienten, die nicht mehr in der Lage sind, einen ausreichenden pulmonalen Gasaustausch für die Blutgase Kohlenstoffdioxid ( $\text{CO}_2$ ) und Sauerstoff ( $\text{O}_2$ ) zu gewährleisten. Dieser Zustand wird als respiratorische Insuffizienz bezeichnet. International besteht keine einheitliche Definition der respiratorischen Insuffizienz, jedoch wird allgemein die Dyspnoe als führendes Symptom betrachtet. In fortgeschrittenem Stadium kommt es außerdem zu Bewusstseinsstörungen (AWMF, 2017). Ist die Aufnahme von Sauerstoff in das Blut gestört, so spricht man von einer Hypoxämie, einer sogenannten partiellen respiratorischen Insuffizienz. Kommt es zu einem Anstieg des Kohlendioxidpartialdrucks ( $\text{pCO}_2$ ) im Blut, wird dies als Hyperkapnie bezeichnet. Das gleichzeitige Auftreten von Hypoxämie und Hyperkapnie ergibt den pathologischen Zustand der respiratorischen Globalinsuffizienz. Für die Grenzwerte, die eine Hypoxämie bzw. Hyperkapnie definieren, gibt es in der Literatur ebenfalls keinen einheitlichen internationalen Konsens (AWMF, 2017). In einem Review der Studien zu physiologischen  $\text{paO}_2$ -Werten des Menschen wurde aus den kumulativen Daten für erwachsene Patienten ein physiologischer Referenzbereich zwischen 94 mmHg für 20-29-Jährige und 74 mmHg für 80-89-Jährige abgeleitet (Marshall und Wyche, 1972). Somit kann ein Unterschreiten dieses altersabhängigen Wertes als Hypoxämie angesehen werden. Als Hyperkapnie wird eine Erhöhung des  $\text{paCO}_2$  über 6.5kPa ( $>46\text{mmHg}$ ) bezeichnet (Davidson et al., 2016).

Im klinischen Alltag wird die Entscheidung zur endotrachealen Intubation und invasiven Beatmung häufig aufgrund einer individuellen kumulativen Symptomatik, bestehend aus Dyspnoe, Hypoxämie, Hyperkapnie, Vigilanzminderung und Abfall der peripheren Sauerstoffsättigung ( $\text{SpO}_2$ ) getroffen. Es gibt zahlreiche dieser Symptomatik zugrundeliegenden Ursachen: Neben diversen Lungenerkrankungen wie z. B. der Pneumonie oder der

exazerbierten chronisch obstruktiven Lungenerkrankung (COPD), kommen zahlreiche andere, extrapulmonale Ursachen wie beispielsweise eine nicht-pneumogene Sepsis, eine Pankreatitis oder eine Polytraumatisierung in Frage. Im Rahmen dieser Krankheitsbilder kann ein Aufenthalt des Patienten auf einer Intensivstation notwendig werden. Überschreiten die pulmonale Situation und der damit zusammenhängende gestörte Gasaustausch einen kritischen Punkt, so muss die endotracheale Intubation des Patienten zur Sicherstellung einer suffizienten Gewebsoxygenierung erwogen werden. Des Weiteren wird eine mechanische Sicherung der Atemwege erreicht, die dem Schutz vor Aspiration von saurem Mageninhalt dient und eine luftdichte Verbindung zwischen Lunge und Beatmungsgerät schafft, womit eine Überdruckbeatmung technisch ermöglicht wird. Durch die kontrollierte Beatmung kann die Atmung des Patienten maschinell unterstützt oder vollständig ersetzt und der Gasaustausch verbessert werden. Dies sichert das Überleben des Patienten, bis die ursächliche Pathologie therapiert wurde.

## 1.2 Grundlagen von Atmung und Beatmung

Die Atmung als physiologischer Vorgang erfolgt durch zyklische Druckänderungen im Thorax des Menschen. Eine Vergrößerung des Thoraxvolumens durch die Inspiration bewirkt einen Druckabfall in den Atemwegen und in der Lunge. Der hieraus resultierende negative transthorakale Druck zwischen Atmosphäre und Atemwegen führt zu einem Einstrom des Atemgases durch Konvektion über die Luftwege in die Lunge. Das so während eines Atemzugs eingeatmete Volumen wird als Atemzugvolumen bezeichnet. Nach Beendigung der Inspiration wird durch die elastischen Rückstellkräfte des Thorax die Expiration eingeleitet. Der transthorakale Druck wird positiv, der intrapulmonale Druck übersteigt den atmosphärischen Druck und das Atemgas strömt wieder aus der Lunge heraus. Bei der maschinellen Überdruckbeatmung werden analog zur physiologischen Atmung die Phasen der Inspiration und Expiration unterschieden.

In der Inspiration baut das Beatmungsgerät einen positiven transthorakalen Druck auf und es resultiert ein Luftstrom über die oberen und unteren Atemwege bis in die Alveolen hinein. Das applizierte Volumen ist proportional zur Druckdifferenz zwischen dem vom Respirator aufgebauten positiven Beatmungsdruck und dem Atemwegsdruck des Patienten. Die für dieses Volumen teilweise auch hier gebräuchliche Bezeichnung Atemzugvolumen ist jedoch strenggenommen nicht korrekt, da kein Atemzug im Sinne einer negativen Druckdifferenz durch den Patienten erfolgt, sondern ein Atemhub durch den Respirator abgegeben wird. Somit empfiehlt sich die Bezeichnung Atemhubvolumen. Synonym werden die Begriffe Tidalvolumen (TV) oder ventilatory tidal (VT) benutzt.

Die Expiration ist wie beim spontan atmenden Patienten ein passiver Vorgang. Die Rückstellkräfte des Lungengewebes und des Thorax bauen nun ihrerseits einen Druck auf, der dafür sorgt, dass Luft aus der Lunge wieder entweichen kann.

Ein weiteres Modul der maschinellen Beatmung ist der sogenannte positive endexpiratorische Druck (PEEP). Für das Herstellen eines PEEP wird am Ende der Expiration ein Überdruck in den Atemwegen aufrechterhalten. Dieser soll einem Kollaps der kleinen Atemwege in der Peripherie entgegenwirken. Da die Oberflächenspannung bei pathologisch veränderten Alveolen erhöht ist, kollabieren sie leichter in der Expirationsphase. Ein erneutes Eröffnen dieser kollabierten Alveolen würde einen deutlich höheren positiven Druck benötigen als der initial gewählte Überdruck der Inspirationsphase.

Atemwegsdrücke, Tidalvolumina, Beatmungsfrequenzen, Atemgasflüsse und das Verhältnis von Inspiration zu Expiration sind Größen, die eine Beatmungsform weiter differenzieren. Bei unseren Versuchstieren wählten wir eine druckkontrollierte Beatmungsform. Diese stellt seit Jahren im deutschen Sprachraum eine der beiden zur Verfügung stehenden Beatmungsformen (druckkontrolliert oder volumenkontrolliert) in Operationsaal und Intensivstation dar. Bei der druckkontrollierten Beatmung werden am Beatmungsgerät ein inspiratorisches Druckniveau ( $P_{iP}$ ) und ein expiratorisches Druckniveau (PEEP) eingestellt. Das jeweilige Tidalvolumen resultiert dann aus der ebenfalls eingestellten Atemfrequenz und der individuellen Compliance von Atemwegen, Lunge und Thorax des beatmeten Patienten.

### 1.3 Pathophysiologie der Überdruckbeatmung

#### 1.3.1 Das Barotrauma

Die Entwicklung maschineller Beatmungsgeräte ermöglicht einen umfassenden Einsatz zur Versorgung kritisch kranker Patienten auf Intensivstationen. Das Indikationsspektrum zur Beatmung hat sich hierbei in den letzten Jahrzehnten stark verändert (Teplitz, 1976). Viele Patienten, die an einer primär pulmonal bedingten Störung des Gasaustausches litten, verstarben zunächst trotz maschineller Beatmung. Die Gründe hierfür waren vielfältig. Durch die hohen Drücke, die während der maschinellen Beatmung appliziert wurden, kam es zu Luftansammlungen in Mediastinum, Peritoneum oder den Pleurahöhlen. Es wurden sogar Gasembolien in venösen oder arteriellen Gefäßen beobachtet, die oft tödlich verliefen (Haake et al., 1987; Tocino und Westcott, 1996; Weaver und Morris, 1998). Pathologen wiesen in histologischen Untersuchungen nach, dass neben Nekrosen der Alveolarmembran, intraalveolären Blutungen und fibrotischen Umbauprozessen des Lungengewebes eine diffuse Auskleidung des Alveolarraums mit hyalinen Membranen verantwortlich zu sein scheint (Teplitz, 1976; Tsuno et al., 1991).

Dieser pathophysiologische, beatmungsinduzierte Umbauprozess im Lungengewebe wurde unter dem Begriff Barotrauma subsummiert. Hohe Beatmungsdrücke, die auf das Alveolarepithel einwirken, können zu makroskopisch sichtbaren Folgen wie Pneumothorax, Spannungspneumothorax oder mediastinalem Emphysem führen (Haake et al., 1987; Tocino und Westcott, 1996).

#### 1.3.2 Das Volutrauma

Dreyfuss und Mitarbeiter konnten bereits 1988 im Tiermodell an Ratten zeigen, dass nicht allein der Beatmungsdruck, sondern v.a. das applizierte Tidalvolumen maßgeblich für die Lungenschädigung verantwortlich war. In diesem Modell wurde der Thorax der Ratten

bandagiert, so dass eine Überdehnung der Lunge nun nicht mehr möglich war. Einer weiteren Versuchsgruppe wurde der Thorax mittels medianer Sternotomie eröffnet, die Lunge konnte sich nun frei entfalten. Wurde die Lunge nun mit hohen Tidalvolumina beatmet, stieg der Beatmungsdruck bei diesen Tieren kaum an. Die Ratten, deren Thorax bandagiert wurde, zeigten keine Ödembildung der Lunge. Die Tiere der Versuchsgruppe, deren Lungen aufgrund fehlender Begrenzung stark überdehnt wurden, zeigten ein signifikant höheres Auftreten interstitieller Ödeme. Das Ausmaß des Ödems wurde durch Wiegen der Lungen quantifiziert, die Permeabilitätszunahme des Lungenparenchyms wurde mittels markierten Albumins gemessen (Dreyfuss et al., 1988; Woo und Hedley-Whyte, 1972). Diese neuen Erkenntnisse der Pathophysiologie sorgten dafür, dass der Begriff Barotrauma verdrängt wurde. Er wurde durch das Volutrauma korrekterweise ersetzt (Dreyfuss et al., 1988; Dreyfuss und Saumon, 1992).

### 1.3.3 Histologische Veränderungen im Tiermodell

Im Großtiermodell am Schwein konnte nach lungenschädigender Beatmung mit hohen Tidalvolumina ein diffuser Alveolarschaden mit hyaliner Membranbildung und alveolären Blutansammlungen nachgewiesen werden. Weiterhin war eine Infiltration des Parenchyms mit neutrophilen Granulozyten als Zeichen eines entzündlichen Prozesses zu sehen (Kawano et al., 1987; Tsuno et al., 1991). Nach einer Woche Behandlung unter lungenschädigendem Beatmungsregime zeigte die Obduktion dieser Schweine eindeutig die Merkmale eines fortgeschrittenen ARDS, so z.B. kollabierte Alveolarräume, Ansammlungen und Proliferation von Fibroblasten sowie Typ-II-Alveolarepithelzellen (Tsuno et al., 1991). Elektronenmikroskopisch betrachtet, imponieren sowohl endotheliale als auch epitheliale Schäden der Alveolarmembran. Das Endothel hebt sich von der Basalmembran ab, es resultieren intrakapilläre Blasen und es entstehen vereinzelte Brüche der Membran. Auch auf der epithelialen Seite kommt es zu einem Alveolarschaden mit vereinzelten Brüchen oder kompletter Zerstörung der Typ-I-Zellen. Interessanterweise bleiben die Typ-II-Zellen dabei intakt (Dreyfuss et al., 1985).

Störungen im Surfactantsystem führen zu Atelektasen, da die Oberflächenspannung der Alveolen ohne Surfactant stark erhöht ist. Maschinelle Beatmung kann bereits nach kurzer Zeit zu Defekten des Surfactantfilms führen und die Synthese, die Sekretion und die Zusammensetzung des Surfactants stören (Dreyfuss und Saumon, 1992). Ist die Barrierefunktion des Surfactant herabgesetzt, kann es zu einer Ansammlung von niedermolekularer Flüssigkeit in der Alveole kommen. Es entsteht ein alveoläres Ödem (Coker et al., 1992).

#### 1.3.4 Permeabilitätsstörung und Lungenschaden im Tiermodell

Bereits früh in der Geschichte der Beatmungsmedizin wurden die schädigenden Aspekte der Überdruckbeatmung erkannt und verschiedene Tiermodelle zur Untersuchung der beatmungsinduzierten Lungenschädigung entwickelt, um die Pathophysiologie genauer untersuchen zu können (Macklin, 1944). Hier zeigte sich, dass zum einen die Permeabilität der epithelialen und endothelialen Barriere zunahm, was zu einer vermehrten Wasseransammlung im Lungengewebe führte. Zum anderen wurden schwere unspezifische Lungengewebszerstörungen beobachtet (Dreyfuss et al., 1985; Dreyfuss et al., 1988; Dreyfuss et al., 1992). Dieser diffuse Schaden der Alveolarstruktur unterschied sich nicht wesentlich von dem histologischen Bild beim akuten Lungenversagen (ARDS) des Menschen (Bachofen und Weibel, 1982).

Wird die Lunge mit Überdruck beatmet, steigt der Atemwegsdruck während der Inspiration an. Diese Druckerhöhung wird fortgeleitet bis auf die Alveolarmembran, deren physiologische Barrierefunktion dadurch alteriert wird. Parker et al. maßen deshalb kapilläre Filtrationskoeffizienten und transmurale mikrovaskuläre Drücke. Sie konnten zeigen, dass hohe positive Beatmungsdrücke den transmuralen Druck über dem gesamten pulmonalen Gefäßbett nicht wesentlich erhöhen (Carlton et al., 1990; Parker et al., 1990).

Wird die Lunge darüber hinaus mit zu hohen Lungenvolumina beatmet, führt dies zu einer starken Dehnung der Alveolarmembran. Es kommt zu einer Zunahme der Porengröße und die Integrität der Membran wird so herabgesetzt. Dies bedingt große Leckagen, die

selbst Albumin die Barriere passieren lassen (Cooper et al., 1987; Fishman, 1972; Ludwigs et al., 1996). Parker et al. (1990) zeigten an der isolierten Lunge, dass hohe Beatmungsdrücke zu einer Erhöhung des kapillären Filtrationskoeffizienten führen. Hohe Proteinmengen in der Alveolarflüssigkeit führen zu der Annahme, dass die Hauptursache der Ödeme in einer gesteigerten Permeabilität resultieren (Julien et al., 1984).

### 1.3.5 Auswirkungen von PEEP und Tidalvolumina (Atelectotrauma)

Die maschinelle Beatmung mit hohen Tidalvolumina führt zu einer starken Überdehnung der Lunge. Die Funktionseinheit Alveole ist hierbei großen mechanischen Kräften ausgesetzt. Es entwickelt sich ein beatmungsinduzierter Lungenschaden / VILI (Ventilator Induced Lung Injury) (Dreyfuss und Saumon, 1992). Kollabiert eine Alveole am Ende der Expiration, wird sie bei der nun folgenden Inspirationsperiode eröffnet. Dieses zyklische Verschließen und Wiedereröffnen führt zu enormen transalveolären Scherkräften. Dies kann den beatmungsinduzierten Lungenschaden verstärken. Verbleibt am Ende der Expirationsphase ein positiver Restdruck in der Lunge (PEEP), wirkt dieser dem zyklischen Kollaps entgegen (Dreyfuss und Saumon, 1998b; Gattinoni et al., 1993; Lachmann, 1992).

Erkrankt ein Patient an einem ARDS, so profitiert er von einer Beatmung mit PEEP und niedrigen Tidalvolumina. Im Gegensatz dazu erhöht eine Beatmungstherapie mit hohen Tidalvolumina und ohne PEEP die Letalität (Brower et al., 2000). Jedoch kann die unkritische Anwendung eines PEEP auch negative Auswirkungen haben: Ist der applizierte PEEP zu hoch gewählt, verbleibt am Ende der Expiration ein zu hohes Lungenvolumen. Folglich kommt es zur Überdehnung, woraus eine sog. high-volume-injury resultiert (Dreyfuss und Saumon, 1998b; Gattinoni et al., 1994). Weiterhin wirkt sich ein hoher intrathorakaler Druck, der bei einer PEEP-Beatmung entsteht, negativ auf die Hämodynamik aus. Über einen verminderten venösen Rückstrom zum Herzen kommt es zu einem Abfall des Herzzeitvolumens. Müssen nun Katecholamine appliziert werden, um ein ausreichendes Herzzeitvolumen aufrechtzuerhalten, nimmt die Ödembildung der Lunge auf Grund des erhöhten Filtrationsdruckes weiter zu (Dreyfuss und Saumon, 1993).

## 1.4 ARDS

### 1.4.1 Das akute Lungenversagen (ARDS)

Erstmalig einheitlich definiert wurde der Begriff des acute respiratory distress syndrom (ARDS) 1994 von der American-European Consensus Conference on ARDS (Bernard et al., 1994). 2011 wurde das Erkrankungsbild in der Berlin Definition der ARDS Definition Task Force präzisiert (Ranieri et al., 2012): Hiernach handelt es sich beim ARDS um eine akute respiratorische Verschlechterung mit akutem Beginn (< eine Woche), bilateralen Verdichtungen in Röntgenbild oder computertomografischer Bildgebung, wobei ein kardi-ales Lungenödem definitionsgemäß ausgeschlossen werden muss.

Die Definition sieht außerdem drei sich gegenseitig ausschließende ARDS-Kategorien vor, die auf dem Grad der Hypoxämie basieren: mild ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 300$  mmHg), moderat ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 200$  mmHg) und schwer ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 100$  mmHg), sowie 4 zusätzliche Variablen für ein schweres ARDS: Röntgendichte der Lunge, reduzierte respiratorische Compliance ( $\leq 40$  ml/cmH<sub>2</sub>O), benötigter positiver end-expiratorischer Druck ( $\geq 10$  cmH<sub>2</sub>O), und Atemminutenvolumen ( $\geq 10$  l/min) (Ranieri et al., 2012). Die Ursachen für ein ARDS können vielfältig sein. Hierbei spielen sowohl extrapulmonale Pathologien wie die Sepsis oder die Pankreatitis als auch primär pulmonale Krankheitsbilder wie die Pneumonie eine Rolle (Gattinoni et al., 1998). Es ist zum Teil sehr schwierig zwischen den negativen Folgen einer Beatmung und dem Fortschreiten der zugrunde liegenden Erkrankung zu differenzieren. Nichtsdestotrotz ist es unstrittig, dass eine maschinelle Beatmung bei einer vorbestehenden Funktionsstörung des respiratorischen Systems eine Verstärkung des Lungenschadens bedingen kann (Bernard et al., 1994). Somit gibt es verschiedene Faktoren, die für eine beatmungsassoziierte Lungenschädigung prädisponieren.



#### 1.4.2 Definition VILI

Pulmonale Veränderungen, die bei maschinell beatmeten Patienten auftreten können, ähneln den beatmungsinduzierten Lungenschäden wie sie im Tiermodell beschrieben worden sind.

Diese, dem ARDS vergleichbaren Lungenschäden, werden als beatmungsinduzierte Lungenschädigung (VILI – ventilator induced lung injury) bezeichnet (Slutsky, 1999).

Hierbei werden verschiedene Phänomene, welche bei der Überdruckbeatmung zumindest regional in einer beatmeten Lunge auftreten, für diese Pathologie verantwortlich gemacht.

Neben dem Barotrauma, Volutrauma und Atelectotrauma (s. 1.3.1, 1.3.2 und 1.3.5) wird auch ein Biotrauma als Entstehungsmechanismus genannt (Slutsky, 1999).

#### 1.4.3 Wirkung auf das Immunsystem bei VILI

Hohe Tidalvolumina im Rahmen einer maschinellen Beatmung können die Integrität der Basalmembran zerstören. Neutrophile Granulozyten sind dann in der Lage, mit der ansonsten unzugänglichen Basalmembran zu interagieren. Als Folge kommt es zu einer Steigerung der Kapillarpermeabilität mit zellulärer Infiltration von Lymphozyten und neutrophilen Granulozyten in den Alveolarraum und das Interstitium hinein (Tsuno et al., 1991).

Des Weiteren aktivieren hohe Scherkräfte verschiedene intrazelluläre Kaskaden, die zu einer erhöhten Expression von Entzündungsmediatoren führen. Auf den Stimulus „mechanische Belastung“ wurde in Lungenextrakten c-fos-mRNA nachgewiesen (Tremblay et al., 1997). Die Transkription der c-fos Gene, ein Protoonkogen, wird als einer der frühesten Reaktionen von Alveolarmakrophagen auf diverse Stimuli betrachtet. Weiterhin

kommt es zur Aktivierung der Tyrosin-Kinase, der Phospholipase C $\gamma$  sowie der Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen wie Interleukin-6, Interleukin-8, Interleukin-1 $\beta$  und TNF- $\alpha$ , aber auch antiinflammatorischen Zytokinen wie Interleukin-10 aus aktivierten Alveolarmakrophagen (Dreyfuss und Saumon, 1998a; 1998b; Slutsky und Tremblay, 1998).

Wird die Lunge zyklisch geöffnet und wieder geschlossen, führt dies zu einer erhöhten Freisetzung von pro-inflammatorischen Zytokinen in der alveolären Lavage, ein adäquater gewählter PEEP zeigt dann protektive Effekte mit einer Abnahme der Zytokinkonzentration (Slutsky und Tremblay, 1998). An humanen Alveolarzellen Typ II konnte *in vitro* eine IL-8 Freisetzung beobachtet werden, als diese gedehnt wurden (Vlahakis et al., 1999).

## 1.5 Toll-like Rezeptoren

Toll-like Rezeptoren (TLRs) sind Mustererkennungsrezeptoren, durch welche eine Immunantwort ausgelöst wird, wenn verschiedene Pilz-, Virus- oder Bakterienverbindungen an der Rezeptoroberfläche binden (Takeda und Akira, 2015). Lipoteichonsäure (LTA), eine spezifisch bei grampositiven Bakterien vorkommende Zellwandkomponente, löst bei Bindung an TLR2 eine Immunantwort aus (Poltorak et al., 1998), während Lipopolysaccharid (LPS), ein ausschließlich in den Zellwänden gramnegativer Bakterien vorhandenes Molekül, den TLR4 (Takeuchi et al., 1999) aktiviert. Unmethylierte Cytosin-Guanin-Oligodesoxynukleotide (CpG-ODNs), kommen in bakterieller DNA signifikant häufiger vor als in Wirbeltier-DNA. Durch diese Sequenzen wird eine Immunantwort über den TLR9 (Hemmi et al., 2000; Krieg et al., 1995) initiiert. TLR9 ist in Lysosomen integriert, wohingegen TLR2 und TLR4 in der Zellmembran (Nishimura und Naito, 2005) lokalisiert sind.

TLRs werden in verschiedenen Organen, einschließlich der Lunge, unterschiedlich exprimiert, wo sie an verschiedenen entzündlichen Erkrankungen wie allergischem Asthma (Nishimura und Naito, 2005; Schröder und Arditi, 2007) autoimmuner Lungenverletzung (Pawar et al., 2007) und Lungenentzündung (Ehrentraut et al., 2011; Knuefermann et al.,

2007) beteiligt sind. Bakterielle Verbindungen induzieren die Expression von Entzündungsmediatoren wie proinflammatorischen Zytokinen und Chemokinen, die für die Pathogenese von Lungenentzündungen und Lungenverletzungen von großer Bedeutung sind (Baumgarten et al., 2006; Li et al., 2004). Beide attrahieren und aktivieren Immunzellen, die in die Lunge eindringen. Außerdem beteiligen sie sich während der ARDS an der Störung der Alveolokapillarstruktur, dem Bruch von Basalmembranen und dem Umbau der interstitiellen Matrix (Villar et al., 2019).

Wir haben bereits gezeigt, dass ferngesteuerte pulmonale Inflammationen nach *in vivo* Stimulationen mit äquivalenten Dosen von LTA, LPS und CpG-ODN am stärksten nach LPS-Gabe ausfielen, gefolgt von der Applikation mit CpG-ODN und am geringsten nach LTA-Applikation ausfielen (Ehrentraut et al., 2011).

## 1.6 Fragestellung

Diese Promotionsarbeit geht der Frage nach, ob verschiedene Beatmungsstrategien im Rahmen einer systemischen Inflammation einen unterschiedlichen Einfluss auf die pulmonale Entzündungsreaktion haben. In einem murinen Modell wurde die systemische Entzündungsreaktion hierbei mit verschiedenen TLR-Agonisten induziert und im Anschluss entweder mit niedrigen Tidalvolumina (low-volume-ventilation) oder hohen Tidalvolumina (high-volume Ventilation) beatmet. Die Hypothese war, dass hier die low-volume Ventilation einen subklinisch bestehenden Lungenschaden im Rahmen der systemischen Inflammation geringer aggraviert als eine Beatmung mit hohen Tidalvolumina.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Versuchstiere und Haltungsbedingungen

Die experimentellen Tierversuche wurden vom Ethik- und Forschungsausschüssen des Landesamtes für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz NRW genehmigt (50.203.2-BN 43, 28/01).

Als Versuchstiere dienten männliche C57BL/6N Mäuse, das Alter lag zwischen 10 bis 12 Wochen. Dies entsprach einem Körpergewicht zwischen 24 bis 28 g. Die Tiere wurden in Käfigen in Gruppen von bis zu sechs Tieren gehalten. Die Räume waren klimatisiert, wiesen eine durchschnittliche Raumtemperatur von 24°C auf, und es herrschte eine Luftfeuchtigkeit von 55%. Die Tiere konnten Wasser aus Trinkflaschen und Futter *ad libitum* aufnehmen.

Um den Transportstress und eventuelle Auswirkungen auf die Zytokinspiegel der Versuchstiere zu minimieren, wurden die Mäuse mindestens sieben Tage vor Versuchsbeginn in unserem Versuchslabor untergebracht.

### 2.2 Versuchsaufbau

#### 2.2.1 Beatmungsgerät

Zur maschinellen Beatmung der Versuchstiere wurde ein Beatmungsgerät (Hugo Sachs KTR-5 (PY2 73-3640), Hugo Sachs Elektronik – Harvard Apparatus GmbH, March-Hugstetten Germany) eingesetzt.

Das Gerät wurde nach unseren Anforderungen modifiziert, da werksseitig nur Beatmungsfrequenzen von maximal 199 / min möglich waren. In Vorversuchen zeigte sich jedoch,

dass bei den von uns angestrebten Tidalvolumina höhere Atemfrequenzen notwendig waren. Das modifizierte Beatmungsgerät konnte Beatmungsfrequenzen von 250 / min applizieren.

Dieses Gerät arbeitet Flow-, Druck- und Frequenz gesteuert. Die Atemfrequenz pro Minute, das Verhältnis der Inspiration zu Expiration in Prozent, der Gasfluss und ein inspiratorisches Plateau lassen sich bei diesem Gerät individuell einstellen. Mittels einer Wasserfalle ließ sich ein externer PEEP (positiv-endexpiratorischer Druck) am Beatmungsgerät einstellen. Ein Schlauch, der sich in einem mit Wasser gefüllten Gefäß befand, wurde an der Rückseite des Gerätes mit dem Expirationsventil angeschlossen. Anhand der Eintauchtiefe des Schlauches im Gefäß konnte dann ein externer PEEP eingestellt werden. Auf einem digitalen Display wurde der inspiratorische Spitzendruck und der extern eingestellte PEEP abgelesen.

### 2.2.2 Heizung und Wärmeplatte

Da Mäuse und andere Kleintiere während einer Narkose bzw. Operation besonders zügig auskühlen (Cantwell, 2001), war es notwendig die Körpertemperatur mittels einer digitalen Temperatursonde (PowerLab, AD Instruments, Colorado Springs) kontinuierlich zu messen. Für den Wärmeerhalt wurde die Maus auf dem Rücken liegend auf einer selbst-konstruierten Heizplatte befestigt. Diese Platte wurde im Innern von zwei Wasserschläuchen durchzogen. Die Schläuche waren mit einem Gefäß verbunden, in das ein Tauchsieder eingelassen war. Durch manuelles Einschalten des Sieders konnte man nun die Temperatur des Wassers und somit der Heizplatte erhöhen.

### 2.2.3 Experimentelle Gruppen und Protokolle

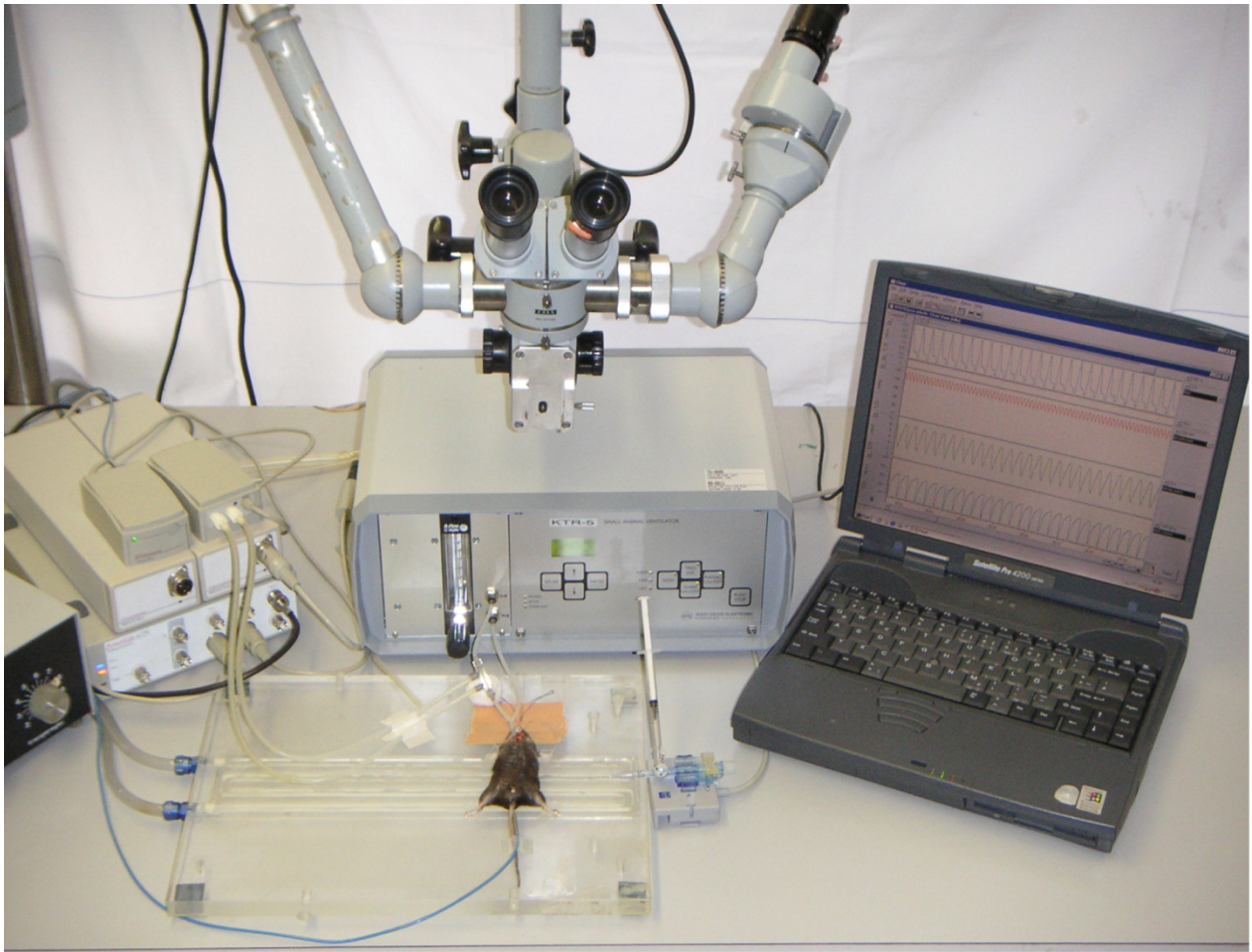
Um die Auswirkungen einer Beatmungsstrategie mit niedrigen Tidalvolumen auf die pulmonale Inflammation nach systemischer TLR2- und TLR9-Ligandenverabreichung zu untersuchen, wurde eine intraperitoneale (i.p.) Injektion von LPS (Serotype 0111:B4, no. 437627, Calbiochem, Gibbstown, NJ 1 µg/g KG), CpG-ODN (1668-Thioate, 5'-TCC-ATG-ACG-TTC-CTG-ATG-CTG-CT, TibMolBiol, Berlin Deutschland, 0.25 nmol/kg KG), ein Nicht-CPG-haltigem ODN (1612-Thioat, 5'-GCT-AGA-TGT-TAG-CGT5, TibMolBiol, Berlin, Deutschland, 0,25 nmol/g BW) oder PBS 120 Minuten vor Beginn des differenzierten Beatmungsprotokolls. PBS wurde als Kontrollgruppe (sham) eingesetzt. Die zur Stimulation verwendeten Dosen verschiedener TLR-Liganden wurden nach früheren Studien und Vorversuchen ausgewählt, da sie sich hierin als ausreichend zeigten um klinische Symptome einer Inflammation zu induzieren, ohne dass die Versuchstiere vor Beendigung des Beatmungsprotokolls verstarben (16, Markowski P, 2013).

### 2.2.4 Narkoseeinleitung und Präparation

Zu Beginn des Versuches wurden die Versuchstiere gewogen (Kern 440-45, Gottl. Kern & Sohn GmbH, 72336 Balingen-Frommern). Anschließend wurde die Maus in einer Box fünf Minuten mit einem Sauerstoff-Fluss von zwei Litern pro Minute präoxygeniert. Zur Narkoseeinleitung diente eine Kombination aus dem NMDA-Antagonisten Ketamin (150 mg/kg KG) und aus dem zentralen  $\alpha_2$ -Agonisten Xylazin (12,5 mg/kg KG), die intraperitoneal injiziert wurde. Diese Kombination ist eine häufig eingesetzte Form der Injektionsnarkose und ermöglicht eine analgetisch und muskelrelaxierende Narkoseführung (Zurbier et al., 2002). Nach einem individuell unterschiedlich ausgeprägten Exzitationsstadium erreichte das Versuchstier nach wenigen Minuten eine ausreichende Narkosetiefe mit erhaltener Spontanatmung. Dann wurde es in Rückenlage mit Hilfe von Pflastern auf der Heiz- und Arbeitsplatte fixiert. Eine digitale Temperatursonde (Thermistor Pod ML-

309 ADInstruments, Spechbach, Deutschland) wurde zwischen 5 und 10 Millimetern rektal eingeführt. Nach medianem Hautschnitt, der von Beginn des Jugulum sternae bis nach kranial zur Unterseite der Mandibula reichte, wurden die Halsweichteile freipräpariert. Nach vorsichtiger Mobilisation der großen Speicheldrüsen nach lateral war die infrahyale Muskulatur medial und der Musculus sternocleidomastoideus lateral einsehbar. Nachdem die infrahyale Muskelgruppe nach lateral mobilisiert wurde, war der Larynx mitsamt der proximalen Trachea zu sehen. Ein Kunststoffkatheter wurde dorsal der Trachea eingefädelt. Dieser diente später als Widerlager und konnte durch Zug die Trachea spannen. Nun wurde ein transversaler Schnitt zwischen zwei Knorpelspangen durchgeführt. Eine Kanüle (1 mm Außendurchmesser, 20 mm Länge; Harvard-Apparatus, Holliston, MA) wurde drei bis vier Millimeter durch die eröffnete Inzision in die Trachea bronchialwärts eingeführt und diente als Beatmungstubus. Zur Messung des Flusses und der Beatmungsdrücke wurde zwischen das Beatmungsgerät und den Tubus ein Pneumotachograph (HSE-Pneumotachometer PTM TYPE 378/0.9 für Mäuse, Sachs Elektronik – Harvard Apparatus GmbH, March-Hugstette, Deutschland) geschaltet. Der Pneumotachograph misst nach Kalibrierung das Atemzugvolumen. Der Tubus wurde mittels eines 5-0 Polypropylen-Fadens zirkulär mit der Trachea fixiert. Dies diente einerseits zur Sicherung der Lage der Beatmungskanüle bei Manipulation, andererseits wurden auf diese Weise Leckagen und somit Fehlmessungen minimiert. Die Maus wurde nun während der anschließenden Präparation nach einem einheitlichen Beatmungsprotokoll ventiliert (siehe Punkt 4.4.1). Lateral des Musculus sternocleidomastoideus und medial der großen Speicheldrüse wurde auf der linken Seite des Tieres die Arteria carotis communis aufgesucht. Nach Separation von Arteria carotis communis und Nervus Vagus wurde ein 5-0 Polypropylen-Faden unter der Arterie eingefädelt. Der Faden wurde nach kranial so weit wie möglich vorgeschoben, um die Blutzirkulation in Höhe der Bifurkation Arteriae carotis communis mit Hilfe eines Knotens zu unterbrechen. Ein zweiter Faden wurde unter das Gefäß eingefädelt und so weit wie möglich in entgegen gesetzter Richtung, aortenwärts, vorgeschoben. Durch leichten Zug an beiden Fäden wurde die Arterie unter Spannung gesetzt, um die spätere Kanülisierung zu ermöglichen bzw. zu erleichtern. Mittels einer Schere wurde proximal der bifurcatio arteriae carotis communis eine oberflächliche Inzision durchgeführt. Mit einer an der Spitze des Kanülenschliffs um hundertachtzig Grad gebogenen 22 Ga-Kanüle wurde das Loch aufgespannt, und ein Katheter wurde mit einer Pinzette eingeführt. Dieser

wurde einen halben Zentimeter in Richtung Aorta vorgeschoben. Nach Fixierung des Katheters mit einem 9-0 Prolene-Faden, wurde der proximale Faden von seiner Spannung befreit. Über den Katheter konnte nun einerseits der arterielle Mitteldruck in der Arteria carotis communis gemessen werden, andererseits war es möglich, über den Katheter intermittierend Blut für spätere Blutgasanalysen zu gewinnen. Der arterielle Mitteldruck wurde mittels eines auf Herzniveau angebrachten Druck-Transducers (Xtrans®, CODAN, Critical Care GmbH, Forstinning, Deutschland) gemessen.



**Abb. 1:** Versuchsaufbau: In der Mitte des Bildes ist das präparierte Versuchstier auf der wasserdurchströmten Wärmeplatte zu sehen. Kranial des Versuchstieres steht das Klein-tierbeatmungsgerät. Hiervon rechts und links platziert sind die Wandler für die Messungen von Beatmungsparametern und Temperatur, sowie der Rechner zur Datenverarbeitung. Mit aufgesetzter 1ml-Spritze ist der Druckwandler für die arterielle Druckmessung zu sehen.



### 2.2.5 Atemmechanische Messungen

Während der Präparation und der Dauer der Beatmung wurde mittels einer Temperatursonde die rektale Körperkerntemperatur aufgezeichnet. Nach Fixieren des Tubus in der Trachea konnten mit Hilfe des Pneumotachographen Fluss und Beatmungsdrücke über den gesamten Atemzyklus gemessen werden. Diese Werte wurden unmittelbar über ein A/D Interface (PowerLab 4/25R; ADInstruments, Spechbach, Deutschland) mit dem Programm PowerLab (ADInstruments, Spechbach, Deutschland) aufgezeichnet. Das Tidalvolumen wurde mathematisch durch das Integral des Inspirationsflusses für jeden Atemzug ermittelt. Der arterielle Mitteldruck wurde über einen Druck-Transducer kontinuierlich gemessen und über PowerLab aufgezeichnet. Die Temperatur wurde mit Hilfe von PowerLab gemessen und aufgezeichnet. Jeweils dreimal, zu Beginn des jeweiligen Protokolls, nach 45 Minuten und zu Versuchsende nach 90 Minuten, wurde eine Blutgasanalyse durchgeführt. 40 Mikroliter ( $\mu\text{l}$ ) Blut wurden zu diesem Zweck mittels einer 1 ml-Spritze über den arteriellen Katheter entnommen. Anschließend wurde eine 55  $\mu\text{l}$ -fassende Kapillare gefüllt, welche nun in ein Blutgasanalyse-Gerät (ABL700 FLEX Blutgasanalysator, Radiometer, Dänemark) eingeführt werden konnte. Gemessen wurden der Sauerstoffpartialdruck ( $\text{PaO}_2$ ), der Kohlenstoffdioxidpartialdruck ( $\text{PaCO}_2$ ) und der negative dekadische Logarithmus der Wasserstoffionen-Konzentration der (pH). Das entnommene Blutvolumen wurde äquivalent mit 40  $\mu\text{l}$  einer Ringer-Laktat Lösung substituiert.

### 2.2.6 Anästhesie und Narkose

Zur Anästhesieeinleitung diente eine Kombination aus Ketamin und Xylazin. Es empfiehlt sich, aufgrund der sehr geringen benötigten Mengen, das Gemisch entsprechend zu verdünnen. Vor der Tracheotomie wurde zusätzlich ein Drittel der Einleitungsdosis Ketamin und Xylazin verabreicht. Dann wurde zur Aufrechterhaltung der Anästhesie nach 45 Minuten ein Drittel der Einleitungsdosis Ketamin und Xylazin intraperitoneal appliziert. Zu Versuchsende wurde die Maus mittels der dreifachen Einleitungsdosis Ketamin/ Xylazin

ethanasiert. Die Versuchstiere wurden nach erfolgter Tracheotomie durch einmalige Gabe von 0,8 mg/kg KG Pancuronium relaxiert. Somit wurde jegliche Form von Spontanatmung weitestgehend ausgeschlossen. Hypotonen Blutdruckphasen wurden während der Anästhesie und nach den Blutentnahmen für die Blutgasanalyse mit Boli einer Voll-elektrolytlösung (Ringer Lactat) entgegengewirkt. Dieser Elektrolytlösung war zusätzlich Heparin in einer Konzentration von 10 I.E. pro ml zugesetzt, um eine Blutkoagulation im Katheter und im Drucktransducer zu verhindern.

### 2.3 Versuchsablauf

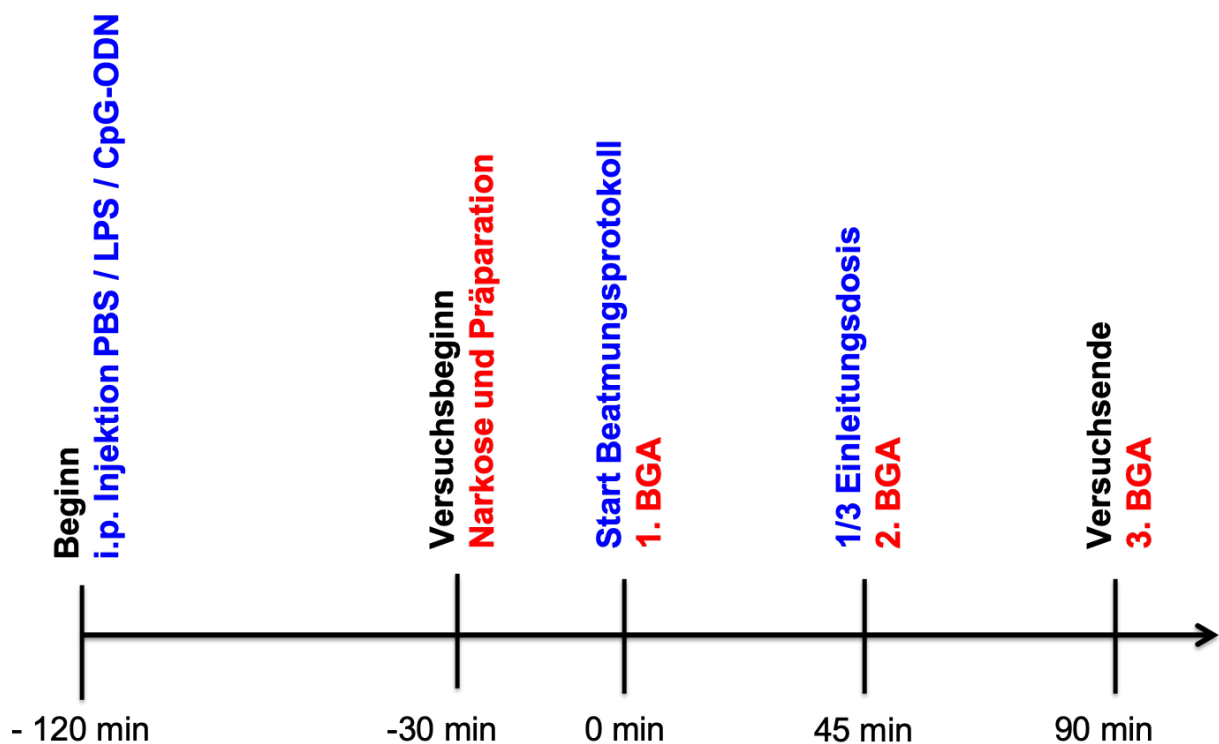


Abb. 2: Übersicht des Versuchsablaufs als Zeitachsendarstellung: 120 min vor Beatmungsbeginn wird die i.p. Injektion durchgeführt. 30 min vor Beginn des differenzierten Beatmungsprotokolls wird die Narkose eingeleitet. Es folgt die Präparation des Versuchstieres. Zum Zeitpunkt  $t = 0$  min beginnt das Beatmungsprotokoll mit HV- und LV-Beatmung. Zu drei Zeitpunkten erfolgt die Blutentnahme und Durchführung einer BGA. Der Versuch endet nach 90-minütiger Beatmung und finaler Blutentnahme.

## 2.4 Beatmungsprotokoll

Die Einleitungs- und Präparationsphase betrug 30 min bis zum Start des spezifischen Ventilationsprotokolls. Das Versuchstier wurde während der Präparationsphase mit einem Tidalvolumen (VT) von 10 ml/kg KG und einer Atemfrequenz von 120 Atemzügen pro Minute ventiliert. Es wurde ein end-inspiratorischer Druck (PiP) von 6,5-9,0 cmH<sub>2</sub>O eingestellt und ein positiv-endexpiratorischer Druck (PEEP) von 2,5 cmH<sub>2</sub>O vorgegeben. Das Verhältnis von Inspiration zu Expiration betrug 1:2, und es wurde mit 100% O<sub>2</sub> (FiO<sub>2</sub>: 1,0) beatmet.

### 2.4.1 Low-volume Ventilation Beatmungsprotokoll (LV)

Für die low-volume Ventilation wurden Mäuse mit einem Tidalvolumen von 7±1 ml/kg KG, einem PEEP von 2,5 cm H<sub>2</sub>O und einem Inspirations-/Expirationsverhältnis von 1:2 beatmet. Die Atemfrequenz wurde zunächst auf 180/min eingestellt und während der Beatmungszeit basierend auf CO<sub>2</sub>-Analysen angepasst, um Hypo- oder Hyperkapnie zu vermeiden. Alle 30 Minuten wurde der end-inspiratorische Druck für 30 Sekunden auf 25 cmH<sub>2</sub>O angehoben. Dieses Rekrutierungsmanöver sollte Atelektasenbildung verhindern bzw. einschränken.

### 2.4.2 High-volume Ventilation Beatmungsprotokoll (HV)

Im high-volume Ventilationsprotokoll wurden Mäuse mit einem Tidalvolumen (VT) von 25±1 ml/kg KG und einem PEEP von 2,5 cm H<sub>2</sub>O, sowie einem Inspirations-/Expirationsverhältnis von 1:2 beatmet. Die Atemfrequenz wurde zunächst auf 80/min eingestellt und während der Beatmungszeit entsprechend der CO<sub>2</sub>-Analysen angepasst, um Hyperkapnie zu vermeiden. Auch in diesem Studienarm wurde der Beatmungsdruck zyklisch alle 30 Minuten für 30 Sekunden auf 25 cm H<sub>2</sub>O angehoben, um einer Atelektasenbildung entgegen zu wirken.

**Tab. 1:** Tabellarischer Vergleich zwischen den beiden Versuchsprotokollen.

<b>Synopsis</b>		
	<b>LV</b>	<b>HV</b>
<b>Zeit [min]</b>	90	90
<b>AF [Anzahl/min]</b>	140 - 230	40 - 140
<b>I : E</b>	1:2	1:2
<b>F<sub>i</sub>O<sub>2</sub></b>	1,0	1,0
<b>PIP [mbar]</b>	7-12	7-23

## 2.5 Probengewinnung

### 2.5.1 Bronchoalveoläre Lavage

Nach Versuchsende wurde das Tier mittels einer Überdosis Ketamin und Xylazin euthanasiert. Anschließend wurde über den in der Trachea liegenden Beatmungstubus der Bronchoalveolarraum mit 500µl Phosphat-gepufferter Salzlösung (PBS) (Merck) einmalig lavagiert. Diese Probe wurde dann umgehend in Flüssigstickstoff bis zur weiteren Probenaufarbeitung schockgefroren.

## 2.6 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

### 2.6.1 Proteinisolation

Zunächst wurde ein Enzyme Linked Immunosorbent Assay- Puffer (ELISA), bestehend aus 0,4 ml Protease-Inhibitor (Roche, Mannheim, Deutschland), 9,6 ml PBS (Merck), 10 µl Triton X-100 (Sigma) und 10 µl PMSF (Sigma) hergestellt. Die in flüssigem Stickstoff gefrorenen Lungen wurden einzeln in einem eiskalten Mörser (Roth, Karlsruhe, Deutschland) zerkleinert.

Die pulverisierten Lungen wurden mit einem in Stickstoff gekühlten Spatel in Homogenisator-Röhrchen überführt, in 1 ml eiskalten ELISA-Puffer aufgenommen und 5 Minuten auf Eis inkubiert. Anschließend wurden die Proben zweimal zwanzigfach homogenisiert (Homogenisator RM-17, Janke & Kunkel KG, Stauffen im Breisgau, Deutschland). Dazwischen wurden sie 10 Minuten auf Eis inkubiert und der Homogenisator mit destilliertem Wasser (ddH<sub>2</sub>O) gereinigt. Danach wurde die Proteinsuspension in 1,5 ml Reaktionsgefäße überführt und für 15 Minuten bei 13.000 U/min und 4 °C zentrifugiert (Centrifuge 5415R, Eppendorf). Der Überstand enthielt die aus den Lungen isolierten Proteine. Um den Erfolg der Proteinisolation zu überprüfen, wurde die Proteinkonzentration mit einem BCA-Protein-Assay-Kit (Pierce, Rockford, IL, USA) gemessen. Das Versuchsprinzip ist der Nachweis von einwertigen Kupferionen durch Bichinonsäure (BCA) (Smith et al. 1985), die bei der Reduktion von zweiwertigen Kupferionen durch Proteine in alkalischem Milieu (Biuret-Reaktion) entstehen. Die Analysen wurden strikt den Angaben des Herstellers durchgeführt. Das Kit enthielt die Reagenzien A und B, die im Verhältnis Reagenz A : Reagenz B = 50 : 1 gemischt wurden. Danach wurden 998 µl dieser Mischung mit 2 µl Proteinlösung in Plastikkuvetten (Sarstedt, Nümbrecht) pipettiert und 30 Minuten bei 37 °C inkubiert. Anschließend wurde die Extinktion bei einer Wellenlänge von 562 nm mit einem Photometer (BioPhotometer 6131, Eppendorf) gemessen. Jede Probe wurde zweimal gemessen und mit Hilfe des Lambert-Beer'schen Gesetztes aus der Extinktion die Proteinkonzentration errechnet. Zuletzt wurde das isolierte Protein auf drei neue 1,5 ml Reaktionsgefäße verteilt und bei -80 °C konserviert.

### 2.6.2 Berechnung der Zytokin- und Proteinkonzentration

Die Berechnung der Zytokinkonzentration erfolgte mittels ELISA-Technik. Die Proteinkonzentration wurde mit Hilfe eines BCA-Protein-Assay-Kit (Pierce, Rockford, IL, USA) ermittelt.

## 2.7 Statistik

Die Auswertung des Datenmaterials erfolgte mit dem Statistikprogramm Prism 5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA). Für die low-volume (LV) und high-volume (HV) Beatmungsgruppen wurden die Parameter Mittelwert  $\pm$  Standardfehler ermittelt. Für die Analysen wurde multiple univariate Varianzanalyse (two-way ANOVA) gefolgt von einer Bonferroni-korrigierten post-hoc Analyse verwendet. Die Unterschiede wurden mit  $p \leq 0.05$  als signifikant festgelegt.

## 3. Ergebnisse

### 3.1 Beatmungsparameter

Zu Beginn der Versuche wurden beide Beatmungsgruppen mit einem Tidalvolumen (TV) von 10 ml/kg KG, einer Atemfrequenz von 120 /min, einem positiven end-expiratorischen Druck (PEEP) von 2,5 cm H<sub>2</sub>O und einem Inspirations- / Expirationsverhältnis von 1:2 für die Zeit der Präparation beatmet. Das differenzierte Beatmungsprotokoll wurde zum Zeitpunkt t = 0 min gestartet. Im Folgenden sind die Veränderungen der Beatmungsparameter nach Gruppen geordnet zu den definierten Zeitpunkten des Versuchsablaufs (siehe auch Abbildung 2)

Als Zielparameter wurde das Atemhubvolumen definiert. Um hier größtmögliche Konstanz zu erreichen wurden die restlichen Beatmungsparameter als abhängige Variablen betrachtet.

### 3.1.1 Tidalvolumina

Nach Start des experimentellen Beatmungsprotokolls wurde entsprechend der Gruppenzugehörigkeit das Tidalvolumen auf  $7 \pm 1$  ml/kg KG, bzw.  $25 \pm 1$  ml/kg KG verändert (Abbildungen 3-6). Somit zeigt sich zum Zeitpunkt  $t = 45$  min und  $t = 90$  min eine signifikante Erhöhung der Tidalvolumina in den HV-Gruppen.

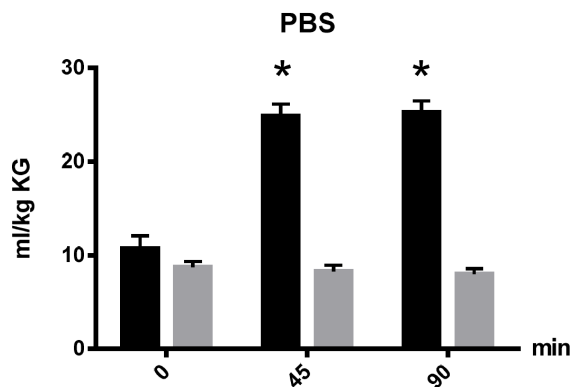


Abb. 3: Tidalvolumina in ml/kg KG der unstimulierten Mäuse über die Beatmungsdauer von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Die Tidalvolumina unterscheiden sich zwischen der HV- und LV-Gruppe nach 45 und 90 min signifikant voneinander ( $n=8$ /Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:  $p<0,05$ ).

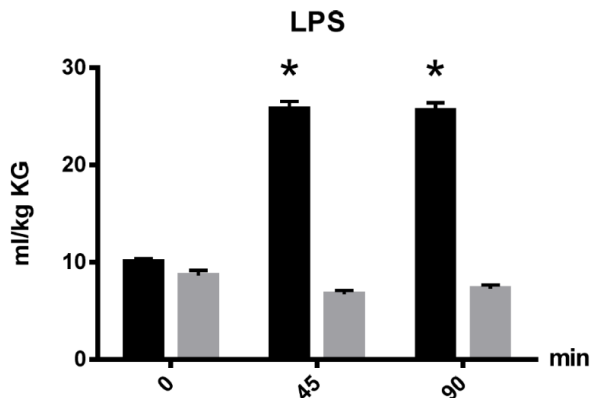


Abb. 4: Tidalvolumina in ml/kg KG der mit LPS stimulierten Mäuse über die Beatmungsdauer von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Die Tidalvolumina unterscheiden sich zwischen der HV- und LV-Gruppe nach 45 und 90 min signifikant voneinander ( $n=8$ /Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:  $p<0,05$ ).

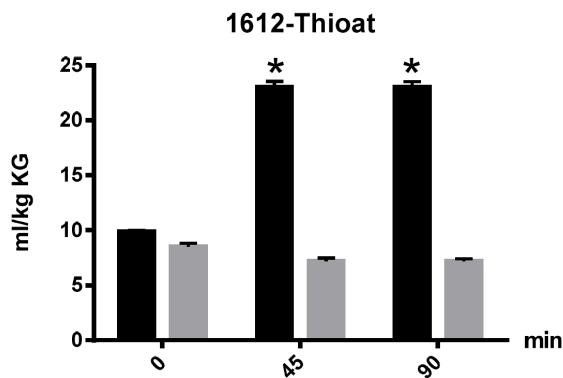


Abb. 5: Tidalvolumina in ml/kg KG der mit 1612-Thioat stimulierten Mäusen über die Beatmungsdauer von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Die Tidalvolumina unterscheiden sich zwischen der HV- und LV-Gruppe nach 45 und 90 min signifikant voneinander (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:p<0,05).

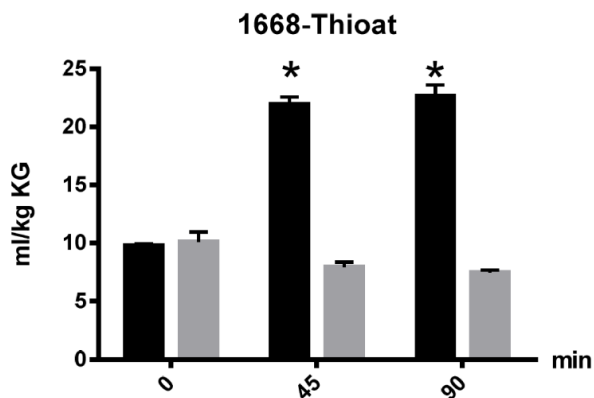


Abb. 6: Tidalvolumina in ml/kg KG der mit 1668-Thioat stimulierten Mäusen über die Beatmungsdauer von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Die Tidalvolumina unterscheiden sich zwischen der HV- und LV-Gruppe nach 45 und 90 min signifikant voneinander (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung; \*:p<0,05)



### 3.1.2 Beatmungsdruck

Als abhängiger Beatmungsparameter verändern sich bei geändertem Atemhubvolumen ebenfalls die Beatmungsdrücke während der Inspirationsphase, da bei unveränderter Thoraxcompliance der Versuchstiere ein erhöhtes Atemhubvolumen wegen der proportionalen Beziehung von Atemhubvolumen und Atemwegsdruck zu einem Anstieg des Atemwegsdrucks führt. Gemessen wurde hier der inspiratorische Spitzendruck (PiP) (Abbildungen 7-10). Der inspiratorische Spitzendruck aller HV-Gruppen erhöht sich zu allen Zeitpunkten unabhängig vom verwendeten TLR Liganden signifikant gegenüber den LV-Gruppen.

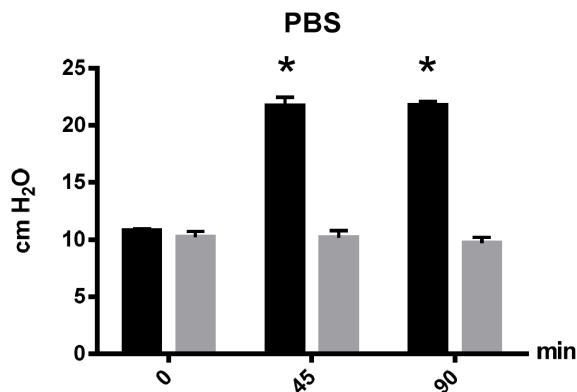


Abb. 7: inspiratorischer Spitzendruck der unstimulierten Mäuse. Veränderung über über die Beatmungsdauer von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Die Tidalvolumina unterscheiden sich zwischen der HV- und LV-Gruppe nach 45 und 90 min signifikant voneinander (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:p<0,05).

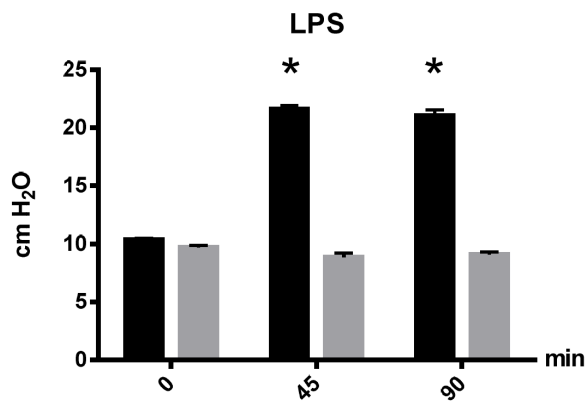


Abb. 8: inspiratorischer Spitzendruck der mit LPS stimulierten Mäuse über die Beatmungsdauer von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Die Tidalvolumina unterscheiden sich zwischen der HV- und LV-Gruppe nach 45 und 90 min signifikant voneinander (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:  $p < 0,05$ ).

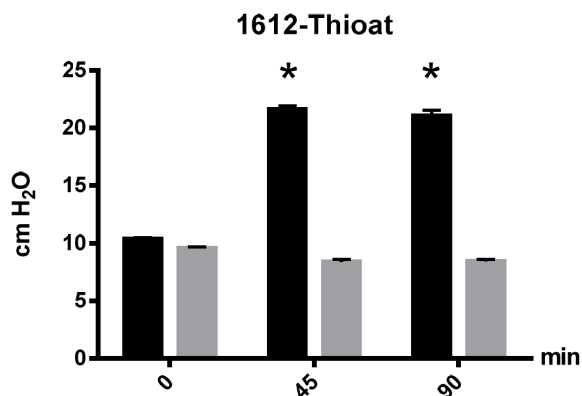


Abb. 9: inspiratorischer Spitzendruck der mit 1612-Thioat stimulierten Mäuse zu den Zeitpunkten 0, 45 min und 90 min nach Vorbehandlung. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Die Tidalvolumina unterscheiden sich zwischen der HV- und LV-Gruppe nach 45 und 90 min signifikant voneinander (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:  $p < 0,05$ ).

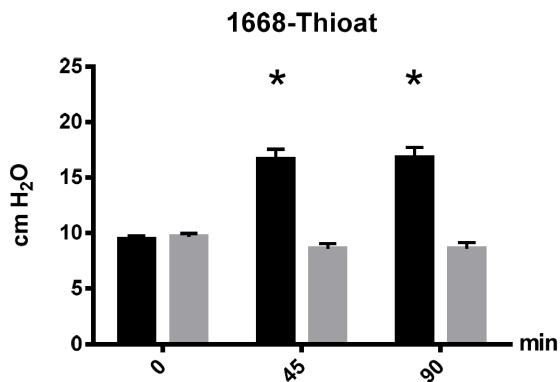


Abb. 10: inspiratorischer Spitzendruck der mit 1612-Thioat stimulierten Mäuse zu den Zeitpunkten 0, 45 min und 90 min nach Vorbehandlung. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Die Tidalvolumina der HV- Gruppe sind signifikant höher als in der LV-Gruppe nach 45 und 90 min (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:  $p < 0,05$ ).

### 3.1.3 Atemfrequenz

Zur Beibehaltung des Atemminutenvolumens und somit zur Verhinderung einer Hypoventilation in der LV-Gruppe und einer Hyperventilation in der HV-Gruppe musste konsekutiv die Beatmungsfrequenz erhöht, bzw. abgesenkt werden (Abbildungen 11-14).

Somit resultiert ab Beginn der differenzierten Beatmungsform eine deutliche Absenkung der Beatmungsfrequenz in den HV-Gruppen.

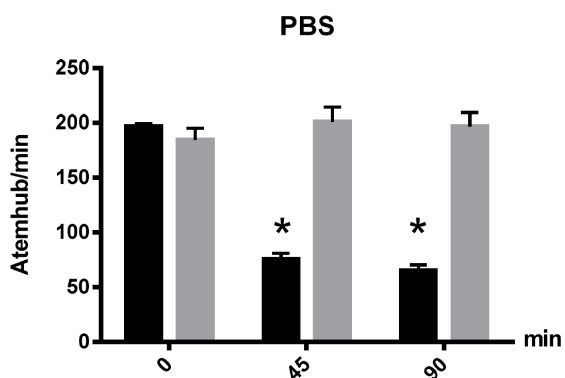


Abb. 11: Beatmungsfrequenz der mit PBS vorbehandelten Mäuse über die Beatmungsdauer von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Die Atemfrequenzen unterscheiden sich zwischen der HV- und LV-Gruppe nach 45 und 90 min signifikant voneinander (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:  $p < 0,05$ ).

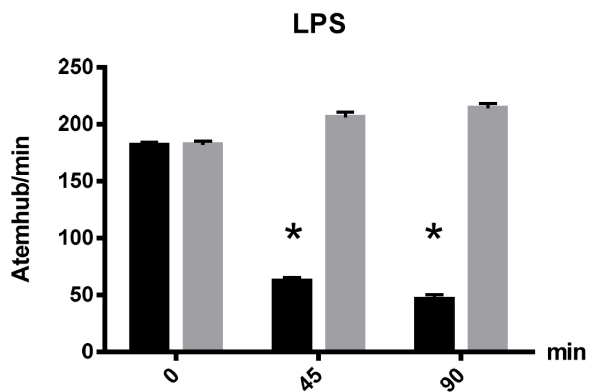


Abb. 12: Beatmungsfrequenz der mit LPS vorbehandelten Mäuse über die Beatmungsdauer von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Die Atemfrequenzen unterscheiden sich zwischen der HV- und LV-Gruppe nach 45 und 90 min signifikant voneinander (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:  $p < 0,05$ ).

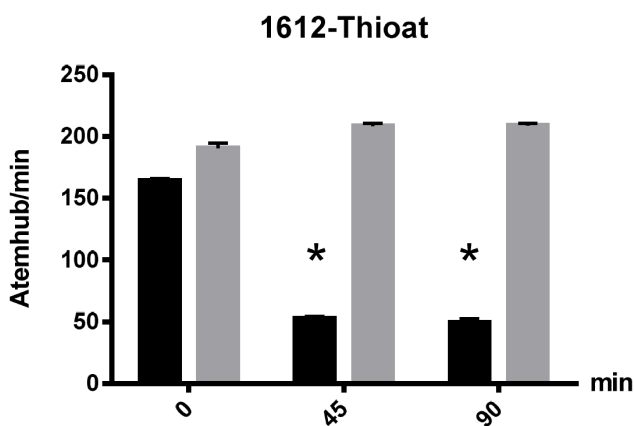


Abb. 13: Beatmungsfrequenz der mit 1612-Thioat stimulierten Mäusen über die Beatmungsdauer von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Die Atemfrequenzen unterscheiden sich zwischen der HV- und LV-Gruppe nach 45 und 90 min signifikant voneinander (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:  $p < 0,05$ ).

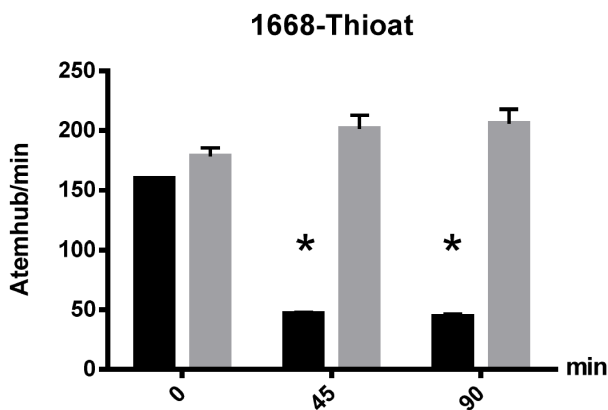


Abb. 14: Beatmungsfrequenz der mit 1668-Thioat stimulierten Mäusen über die Beatmungsdauer von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Die Atemfrequenzen unterscheiden sich zwischen der HV- und LV-Gruppe nach 45 und 90 min signifikant voneinander (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:  $p < 0,05$ ).

#### 3.1.4 Atemminutenvolumen

Ziel war es, die alveoläre Ventilation, d.h. den alveolären Gasaustausch konstant zu halten. Ein Parameter für die alveoläre Normoventilation ist hierbei ein konstanter, normwertiger  $\text{paCO}_2$  in der Blutgasanalyse.

Das Atemminutenvolumen errechnet sich aus dem Produkt von Atemfrequenz (AF) und Tidalvolumen. Letzteres setzt sich aus zwei Anteilen zusammen: dem stets konstanten Totraumvolumen und dem Anteil, der am Gasaustausch teilnimmt (alveoläre Ventilation). Eine niedrige Atemfrequenz bedingt hierbei einen Anstieg der alveolären Ventilation, da die Zeit für den Gasaustausch verlängert wird. Gleichsinnig kann auch ein hohes Tidalvolumen den Anteil der alveolären Ventilation erhöhen, da das Totraumvolumen wie oben erwähnt konstant ist. Hätten wir das Atemminutenvolumen immer gleich groß gewählt, hätte dies in einigen Fällen der HV-Gruppe zu einer alveolären Hyperventilation mit erniedrigtem  $\text{paCO}_2$  geführt. Somit mussten wir bei Bedarf und gesteuert durch die Blutgasanalysen, die Beatmungsfrequenz und in letzter Konsequenz somit das Atemminutenvolumen reduzieren.

Es kam somit zu einer signifikanten Reduktion des Atemminutenvolumens nach 90 Minuten in der HV-Gruppe der mit LPS stimulierten Mäuse und nach 45 und 90 Minuten Beatmungsdauer in der HV-Gruppe der mit 1612-Thioat und 1668-Thioat stimulierten Mäuse (Abbildungen 16-18).

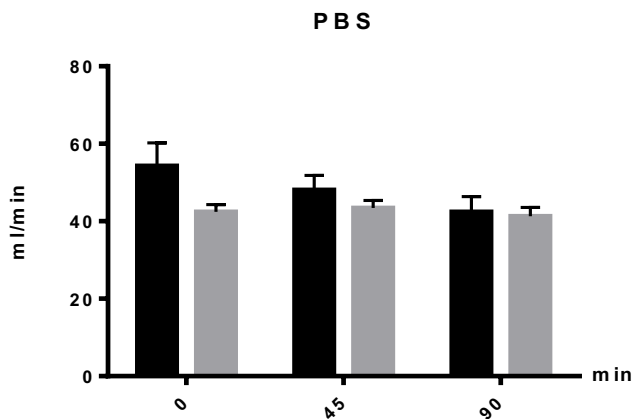


Abb. 15: Atemminutenvolumen der mit PBS vorbehandelten Mäuse über die Beatmungsdauer von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Es sind keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu beobachten. (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*: p<0.05).

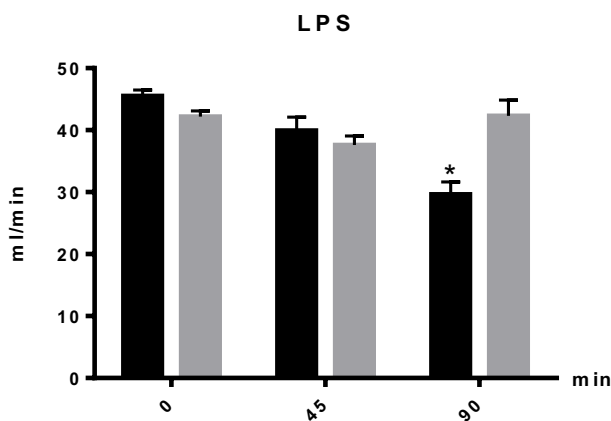


Abb. 16: Atemminutenvolumen der mit LPS vorbehandelten Mäuse über die Beatmungsdauer von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Nach 90 Minuten ist eine signifikante Zunahme des AMV in der LV-Gruppe zu beobachten (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*: p<0.05).

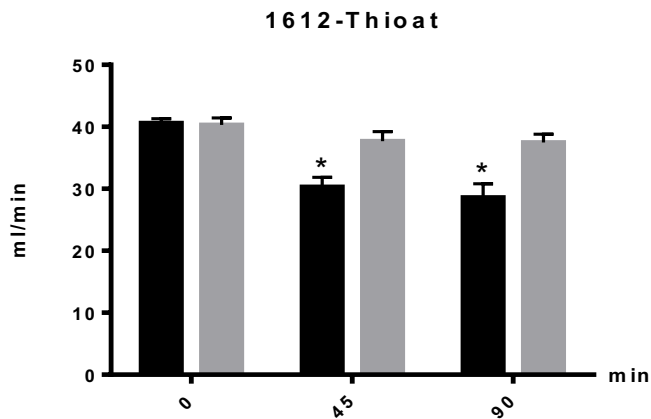


Abb. 17: Atemminutenvolumen der mit 1612-Thioat vorbehandelten Mäuse über die Beatmungsdauer von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Nach 45 und 90 Minuten Beatmungsdauer steigt das AMV signifikant in der LV-Gruppe gegenüber der HV-Gruppe an. (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:  $p < 0.05$ ).

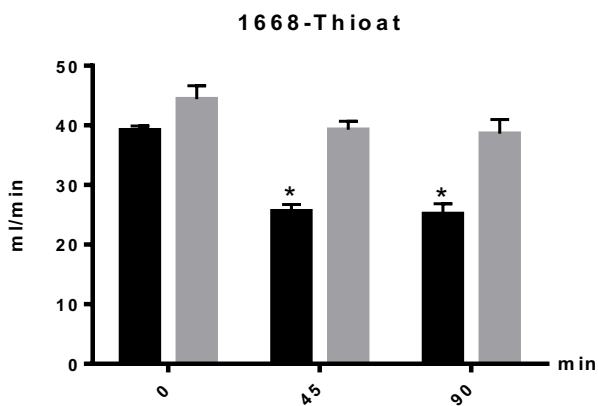


Abb. 18: Atemminutenvolumen der mit 1668-Thioat vorbehandelten Mäuse über die Beatmungsdauer von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Nach 45 und 90 Minuten Beatmungsdauer steigt das AMV signifikant in der LV-Gruppe gegenüber der HV-Gruppe an. (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:  $p < 0.05$ ).

### 3.2 Konzentrationen der Zytokine IL-1 $\beta$ und TNF- $\alpha$ in der BAL

Nach 90minütiger Beatmung (s. Studienprotokoll) wurde eine bronchioalveoläre Lavage entnommen. Gemessen wurde die Gesamtproteinkonzentration und die Konzentration der TLR vermittelten Zytokine TNF- $\alpha$  und Interleukin-1 $\beta$ .

Bei der Konzentration von IL-1 $\beta$  zeigte sich ausschließlich ein signifikanter Anstieg in der Gruppe der Versuchstiere, die mit LPS vorbehandelt waren und im Anschluss mit hohen Tidalvolumina beatmet wurden. In keiner anderen Gruppe zeigten sich signifikante Unterschiede.

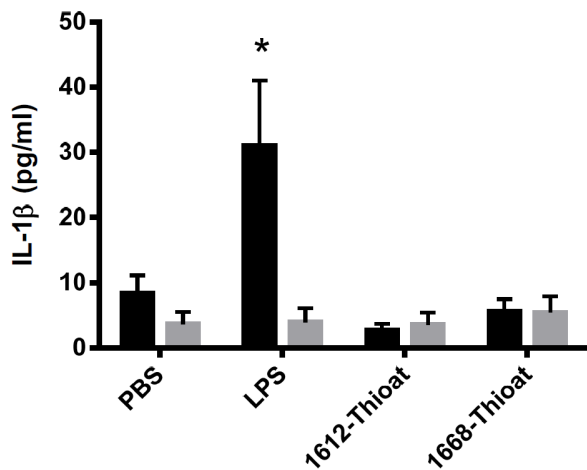


Abb. 19: Vergleich der Zytokinkonzentrationen von IL-1 $\beta$  in der LV- und HV-Gruppe in der bronchoalveolären Lavage. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*: p<0.05)

Die Konzentration von TNF- $\alpha$  in der bronchioalveolären Lavage war nur bei den Mäusen signifikant erhöht, die mittels LPS oder 1668-Thioat stimuliert worden waren und hiernach dem HV-Beatmungsprotokoll unterzogen wurden. Keine Erhöhung der TNF- $\alpha$  Konzentration konnte in den Gruppen beobachtet werden, die 1612-Thioat oder PBS injiziert bekamen oder allen Versuchstieren, die mit niedrigen Tidalvolumina beatmet wurden.



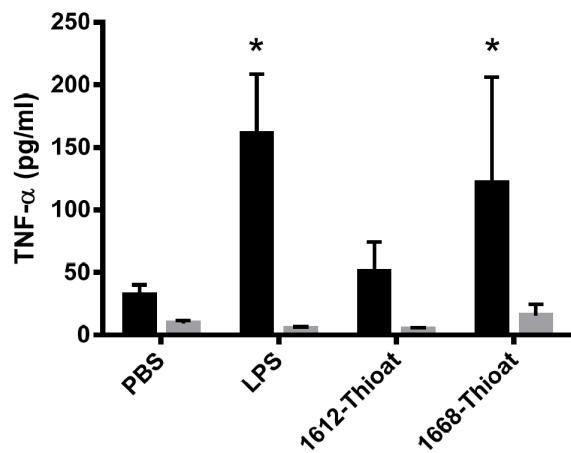


Abb. 20: Vergleich der Zytokinkonzentrationen von TNF- $\alpha$  in der LV- und HV-Gruppe in der bronchoalveolären Lavage. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*: p<0.05).

### 3.3 Proteinkonzentration in der bronchoalveolären Lavage

Die Gesamtproteinkonzentration in der bronchioalveolären Lavage der Versuchstiere, die mit 1612-Thioat und 1668-Thioat stimuliert wurden, war in der HV-Gruppe signifikant erhöht. In den Gruppen, die mit PBS oder LPS vorstimuliert wurden, blieb eine statistisch signifikante Erhöhung der Gesamtproteinkonzentration aus.

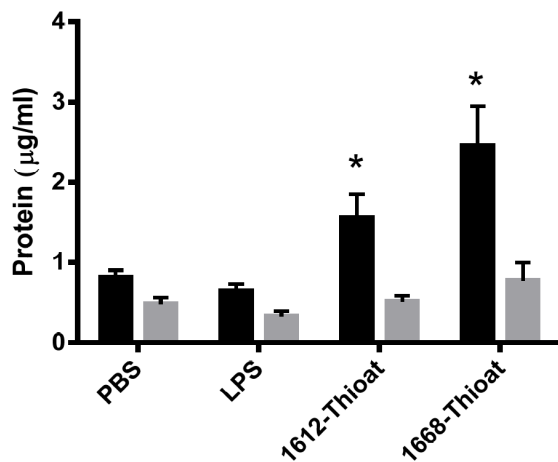


Abb. 21: Vergleich der Gesamt-Proteinkonzentration in der LV- und HV-Gruppe in der bronchioalveolären Lavage. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*: p<0.05).

### 3.4 Blutgasanalyse

Es wurden umgehend nach Beginn des differenzierten Beatmungsprotokolls zum Zeitpunkt 0 Minuten, nach 45 Minuten andauernder Beatmung und am Ende des Beatmungsprotokolls nach 90 Minuten arterielle Blutgasanalysen durchgeführt.

#### 3.4.1 pH-Wert

Der pH-Wert wurde weder durch die Vorbehandlung noch die Art der Ventilation zu einem der gemessenen Zeitpunkte signifikant verändert.

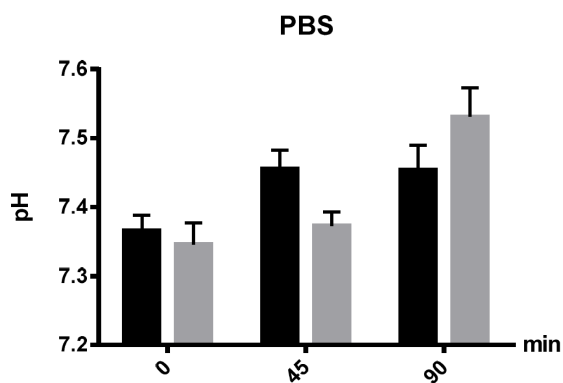


Abb. 22: pH-Wert der unstimulierten Mäuse über den Beobachtungszeitraum von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Es sind keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu beobachten. (n=8/Gruppe; Mittelwert ± Standardfehler=SEM; \*: p<0.05).

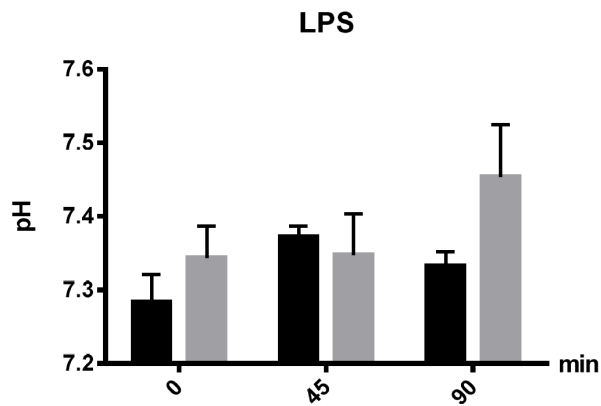


Abb. 23: pH-Wert der mit LPS stimulierten Mäuse über den Beobachtungszeitraum von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Es sind keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu beobachten. (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:  $p < 0.05$ ).

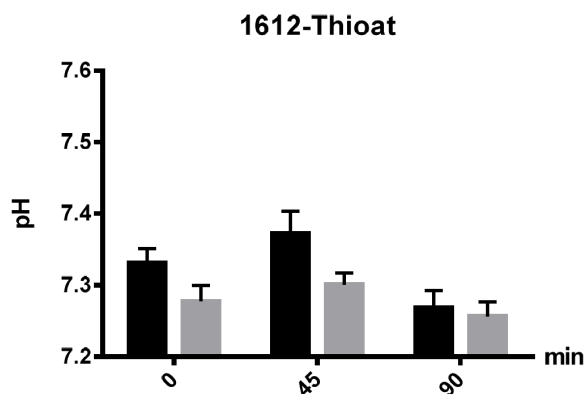


Abb. 24: pH-Wert der mit 1612-Thioat stimulierten Mäuse über den Beobachtungszeitraum von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Es sind keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu beobachten. (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:  $p < 0.05$ ).

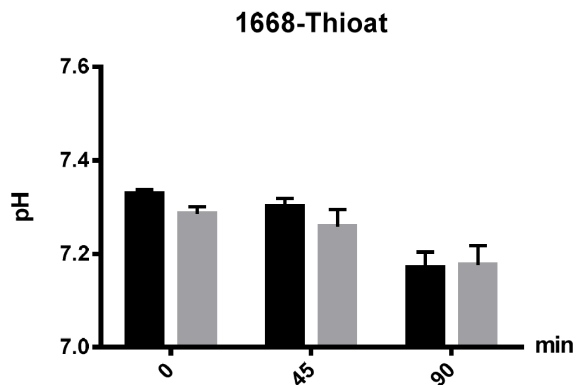


Abb. 25: pH-Wert der mit 1668-Thioat stimulierten Mäuse über den Beobachtungszeitraum von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Es sind keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu beobachten. (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*: p<0.05).

### 3.4.2 Sauerstoff-Partialdruck

Der arterielle Sauerstoffpartialdruck (PaO<sub>2</sub>) war bei den Tieren, welchen LPS injiziert und die mit niedrigen Tidalvolumina beatmet wurden, im Vergleich zu den Tieren, welche nach der LPS-Injektion mit hohen Tidalvolumina beatmet wurden, nach 45 Minuten erniedrigt. Die statistische Analyse zeigt einen Einfluss der Beatmungsdauer auf den Sauerstoffpartialdruck in allen Gruppen. Sowohl bei den Mäusen, welche PBS erhielten, wurde ein Effekt der Beatmungsdauer gezeigt, als auch bei den Tieren, welche LPS erhielten, konnte eine Auswirkung des Beatmungsprotokolls auf den Sauerstoffpartialdrucks gezeigt werden.

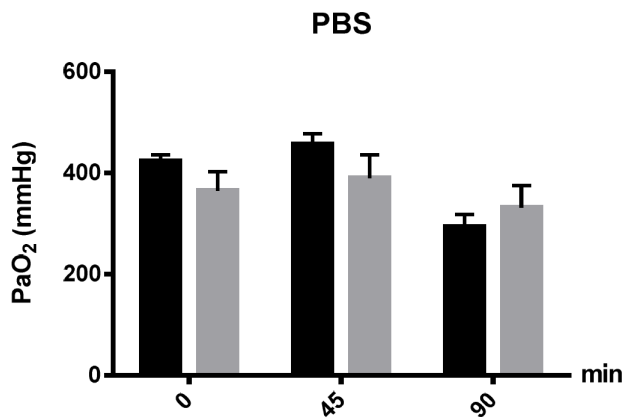


Abb. 26: Arterieller Sauerstoffpartialdruck der mit PBS vorbehandelten Mäuse über den Beobachtungszeitraum von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Es sind keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu beobachten. (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:  $p < 0.05$ ).

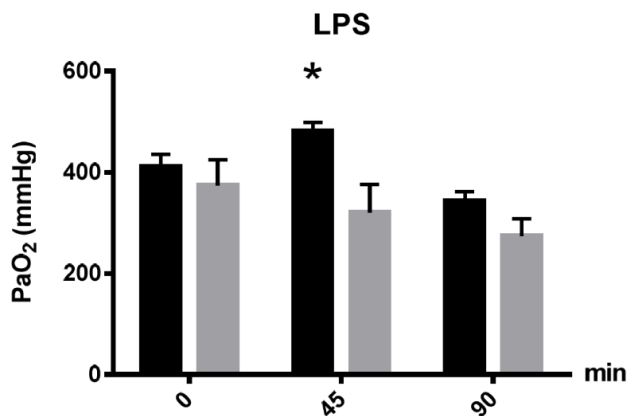


Abb. 27: Arterieller Sauerstoffpartialdruck der mit LPS vorbehandelten Mäuse über den Beobachtungszeitraum von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Nach 45 min ist ein höherer PaO<sub>2</sub> in der HV -Gruppe zu sehen. (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:  $p < 0.05$ ).

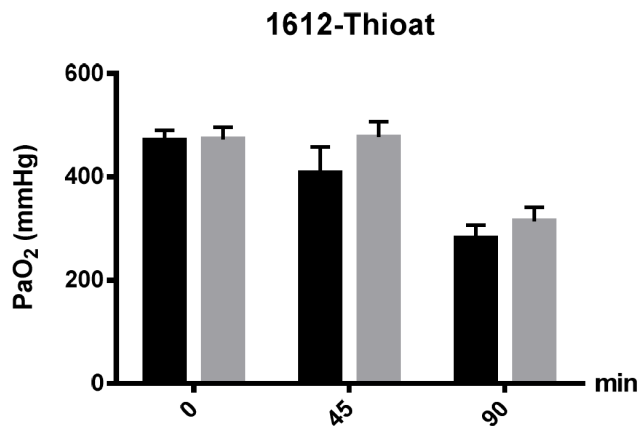


Abb. 28: Arterieller Sauerstoffpartialdruck der mit 1612-Thioat vorbehandelten Mäuse über den Beobachtungszeitraum von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Es sind keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu beobachten. (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:  $p < 0.05$ )

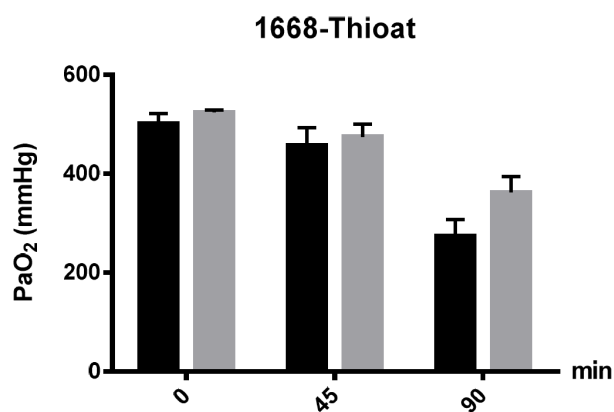


Abb. 29: Arterieller Sauerstoffpartialdruck der mit 1668-Thioat vorbehandelten Mäuse über den Beobachtungszeitraum von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Es sind keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu beobachten. (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:  $p < 0.05$ ).

### 3.4.3 Kohlenstoffdioxid-Partialdruck

Der arterielle CO<sub>2</sub>-Partialdruck der Mäuse, die mit niedrigen Tidalvolumina beatmet wurden und denen vorher PBS oder 1612-Thioat verabreicht wurde, steigt zu Beginn des Beatmungsprotokolls und nach 45 Minuten in der Blutgasanalyse. Der PaCO<sub>2</sub> ist zu den Zeitpunkten t 0 und t 45 Minuten in der LV-Gruppe der LPS stimulierten Mäuse höher als in der HV-Gruppe. Ebenso war der PaCO<sub>2</sub> nach 90 Minuten bei 1668-Thioat stimulierten und mit niedrigen Tidalvolumina beatmeten Versuchstieren höher, als bei den Tieren der gleichen Gruppe, welche mit hohen Tidalvolumina beatmet wurden.

Statistische Analysen zeigen eine Wirkung des Beatmungsprotokolls auf PBS, 1612-Thioat und 1668-Thioat stimulierten Tiere. Desweiteren gab es einen Effekt der Dauer der maschinellen Beatmung bei den Tieren, welche PBS erhalten hatten.

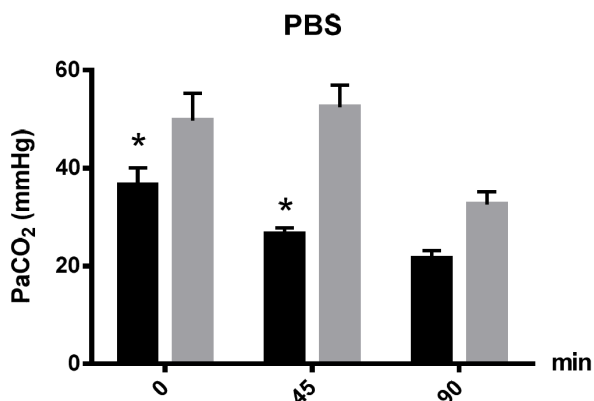


Abb. 30: Arterieller Kohlendioxidpartialdruck der mit PBS vorbehandelten Mäuse über den Beobachtungszeitraum von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Tiere in der HV-Gruppe zeigten signifikant niedrigere CO<sub>2</sub> Partialdrücke als die Vergleichsgruppe zum Zeitpunkt 0 und 45 Minuten (n=8/Gruppe; Mittelwert ± Standardfehler=SEM; \*: p<0.05).

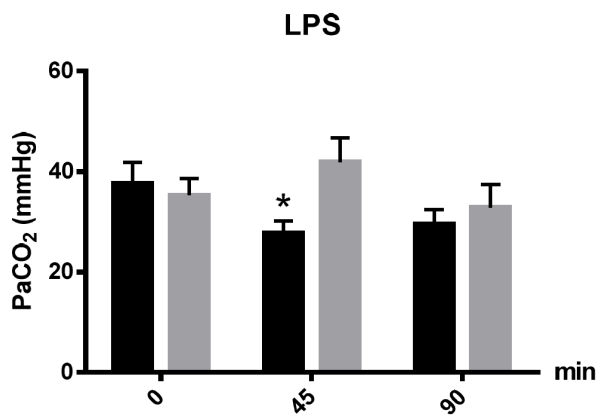


Abb. 31: Arterieller Kohlendioxidpartialdruck der mit LPS vorbehandelten Mäuse über den Beobachtungszeitraum von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Tiere in der HV-Gruppe zeigten nach 45 Minuten signifikant niedrigere CO<sub>2</sub> Partialdrücke als die Vergleichsgruppe (n=8/Gruppe; Mittelwert ± Standardfehler=SEM; \*: p<0.05).

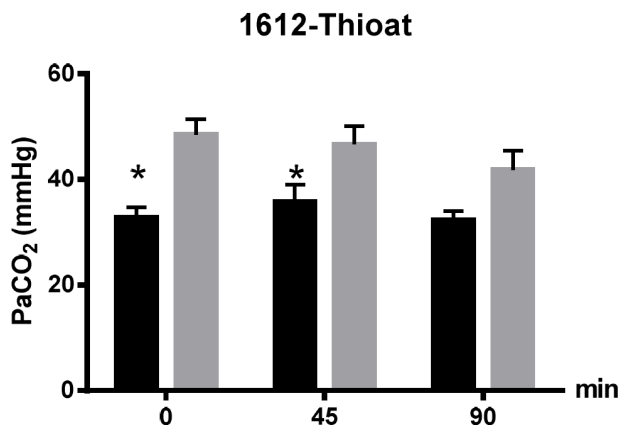


Abb. 32: Arterieller Kohlendioxidpartialdruck der mit 1612-Thioat vorbehandelten Mäuse über den Beobachtungszeitraum von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Tiere in der HV-Gruppe zeigten signifikant niedrigere CO<sub>2</sub> Partialdrücke als die Vergleichsgruppe zum Zeitpunkt 0 und 45 Minuten (n=8/Gruppe; Mittelwert ± Standardfehler=SEM; \*: p<0.05).



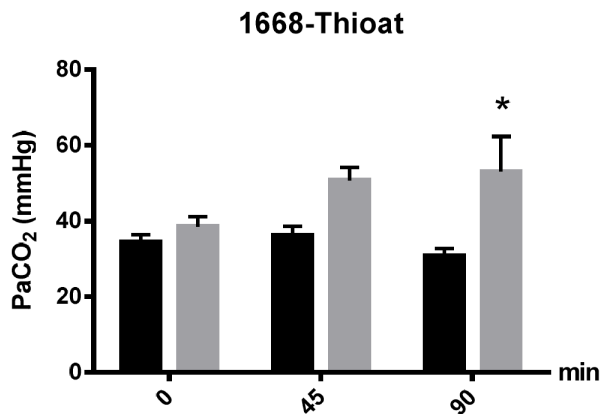


Abb. 33: Arterieller Kohlendioxidpartialdruck der mit 1668-Thioat vorbehandelten Mäuse über den Beobachtungszeitraum von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Tiere in der LV-Gruppe zeigten nach 90 min signifikant niedrigere CO<sub>2</sub> Partialdrücke als die Vergleichsgruppe (n=8/Gruppe; Mittelwert ± Standardfehler=SEM; \*: p<0.05).

### 3.5 Hämodynamik

#### 3.5.1 Arterieller Blutdruck

Der arterielle Blutdruck wurde während des gesamten Experiments über den Druckaufnehmer gemessen. Zur Auswertung wurden die Blutdruckwerte ± einer Minute um den Abnahmezeitpunkt der Blutgasanalysen näher betrachtet. Mittels der Formel

$$\text{MAP} = \text{Diastolischer Druck} + \frac{1}{3} (\text{systolischer Druck} - \text{diastolischer Druck})$$

wurde der für die Organperfusion wichtige arterielle Mitteldruck (MAP) errechnet. Der arterielle Mitteldruck sank in allen Untersuchungsgruppen unabhängig von Beatmungsform oder der Stimulation des TLR-Liganden ab. In der statistischen Analyse zeigt sich eine Wirkung der Beatmung auf den MAP in allen Gruppen, unabhängig von der Art des Beatmungsprotokolls oder dem vorher injizierten Stimulanz.

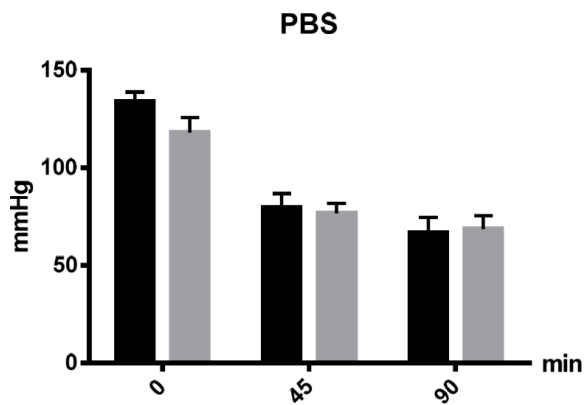


Abb. 34: Arterieller Mitteldruck der mit PBS vorbehandelten Mäuse über den Beobachtungszeitraum von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Es sind keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu beobachten (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*: p<0.05).

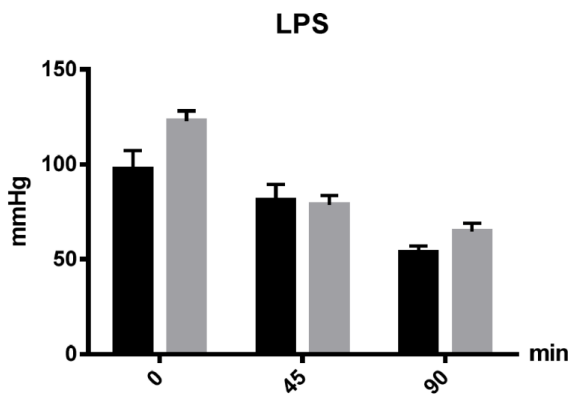


Abb. 35: Arterieller Mitteldruck der mit LPS vorbehandelten Mäuse über den Beobachtungszeitraum von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Es sind keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu beobachten (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*: p<0.05).

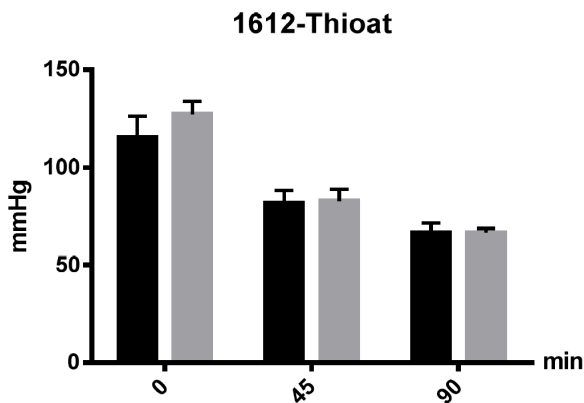


Abb. 36: Arterieller Mitteldruck der mit 1612-Thioat vorbehandelten Mäuse über den Beobachtungszeitraum von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Es sind keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu beobachten (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*: p<0.05).

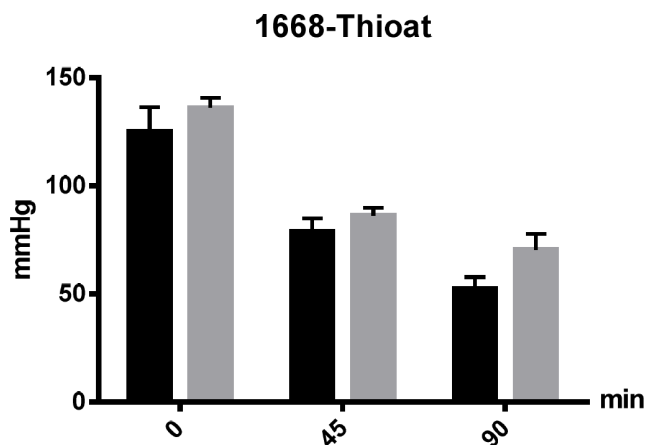


Abb. 37: Arterieller Mitteldruck der mit 1668-Thioat vorbehandelten Mäuse über den Beobachtungszeitraum von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Es sind keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu beobachten (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*: p<0.05).

### 3.5.2 Pulsfrequenz

Über den einliegenden arteriellen Katheter wurde kontinuierlich eine Druckkurve abgeleitet, welche Blutdruck-typische Oszillationen im Sinne des systolischen und diastolischen Blutdrucks darstellt. Über eine softwaregestützte Analyse des Monitorprogramms PowerLab (ADInstruments, Spechbach, Deutschland) wurden die systolischen Maxima in der Kurve detektiert und gezählt. Die Anzahl pro Minute entspricht der Pulsfrequenz.

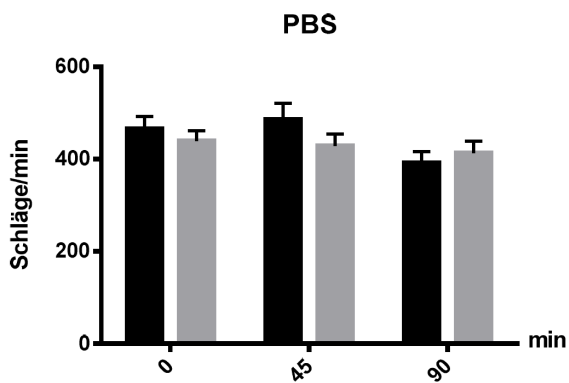


Abb. 38: Pulsfrequenz der mit PBS vorbehandelten Mäuse über den Beobachtungszeitraum von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Es sind keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu beobachten ( $n=8$ /Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:  $p<0.05$ ).

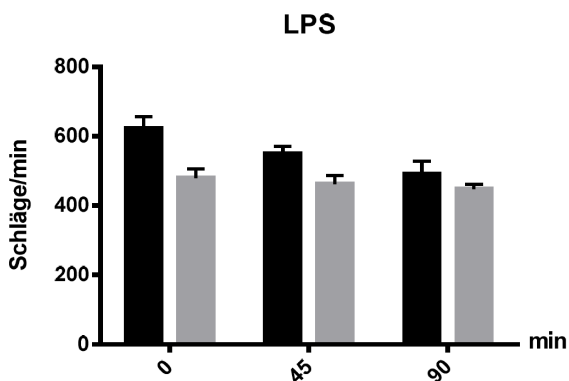


Abb. 39: Pulsfrequenz der mit LPS vorbehandelten Mäuse über den Beobachtungszeitraum von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Es sind keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu beobachten ( $n=8$ /Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:  $p<0.05$ ).

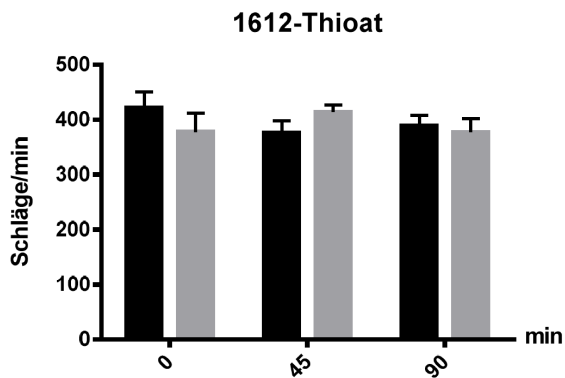


Abb. 40: Pulsfrequenz der mit 1612-Thioat vorbehandelten Mäuse über den Beobachtungszeitraum von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Es sind keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu beobachten ( $n=8$ /Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:  $p<0.05$ ).

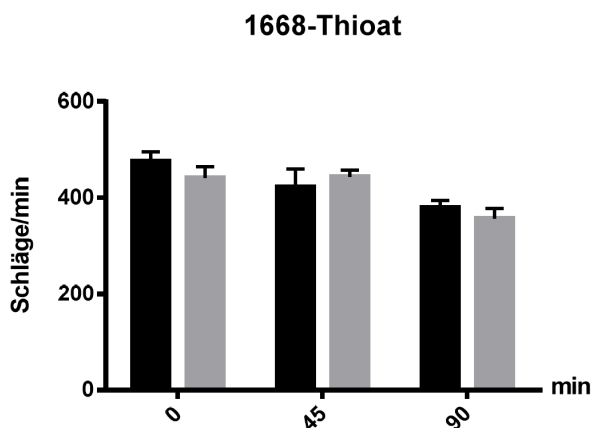


Abb. 41: Pulsfrequenz der mit 1668-Thioat vorbehandelten Mäuse über den Beobachtungszeitraum von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Es sind keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu beobachten ( $n=8$ /Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:  $p<0.05$ ).

### 3.6 Körpertemperatur

Die Körpertemperatur unterschied sich nicht zwischen HV- oder LV-beatmeten und PBS-, LPS-, 1612-Thioat- oder 1668-Thioat-stimulierten Mäusen. Die Körpertemperatur wurde während des Experiments mittels externer Wärmezufuhr durch eine Heizplatte konstant gehalten.

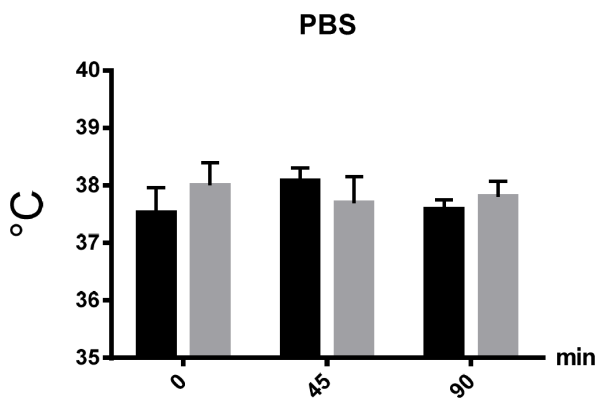


Abb. 42: Temperatur der mit PBS vorbehandelten Mäuse über den Beobachtungszeitraum von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Es sind keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu beobachten (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*: p<0.05).

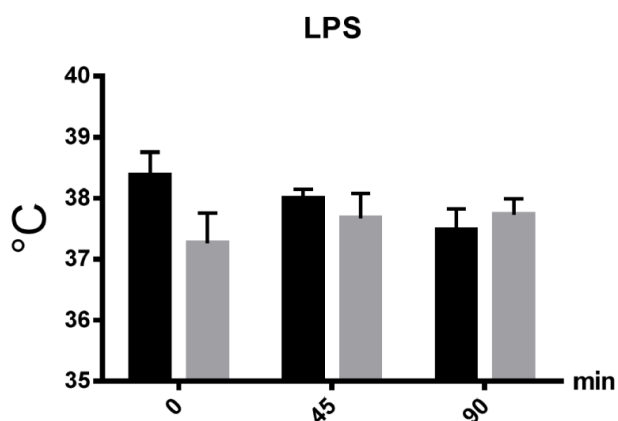


Abb. 43: Temperatur der mit LPS vorbehandelten Mäuse über den Beobachtungszeitraum von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Es sind keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu beobachten (n=8/Gruppe; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*: p<0.05).

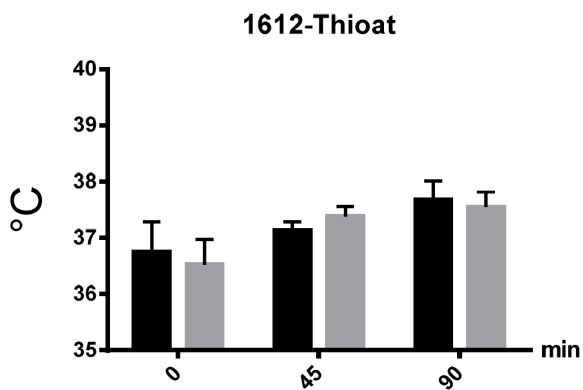


Abb. 44: Temperatur der mit 1612-Thioat vorbehandelten Mäuse über den Beobachtungszeitraum von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Es sind keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu beobachten ( $n=8/\text{Gruppe}$ ; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:  $p<0.05$ ).

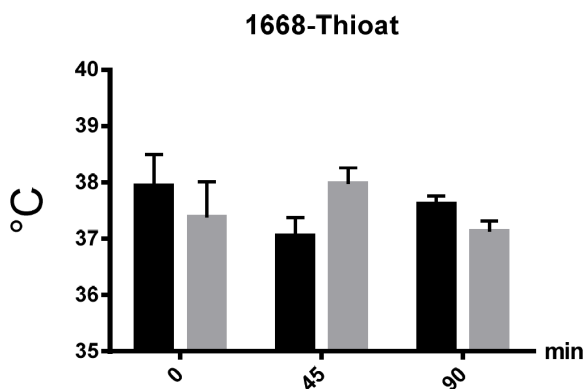


Abb. 45: Temperatur der mit 1668-Thioat vorbehandelten Mäuse über den Beobachtungszeitraum von 90 min. In schwarz ist die HV-Gruppe dargestellt, in grau die LV-Gruppe. Es sind keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu beobachten ( $n=8/\text{Gruppe}$ ; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler=SEM; \*:  $p<0.05$ ).

## 4. Diskussion

Die vorgelegte Promotionsarbeit hat untersucht, welchen Effekt unterschiedliche Beatmungsstrategien auf die pulmonale Entzündungsreaktion im Rahmen einer systemischen Inflammation haben. In einem Modell an Mäusen wurde die systemische Entzündungsreaktion hierbei mit verschiedenen TLR-Agonisten induziert und im Anschluss entweder mit niedrigen Tidalvolumina (low-volume Ventilation) oder hohen Tidalvolumina (high-volume Ventilation) beatmet. Die Hypothese war, dass eine low-volume Ventilation (LV) einen subklinisch bestehenden Lungenschaden im Rahmen der systemischen Inflammation geringer aggraviert als eine Beatmung mit hohen Tidalvolumina (high-volume, HV).

Hierbei waren wir in der Lage, ein Mausmodell der systemischen Inflammation ohne klinisch apparente Zeichen einer Sepsis zu etablieren. Der Nachweis der Inflammation erfolgte hierbei postinterventionell über die Messung proinflammatorischer Zytokine und der Gesamtproteinkonzentration in der BAL.

Wir konnten zeigen, dass im Rahmen einer Vorstimulation mit TLR-Liganden, trotz Ausbleiben von Zeichen einer klinisch apparenten Entzündung, eine maschinelle Beatmung mit niedrigen Tidalvolumina pulmonale Inflammationsmarker in geringerem Maße erhöht als eine Beatmung mit hohen Tidalvolumina (Abbildung 19, 20, 21).

Auch andere Untersuchungen haben gezeigt, dass die Anwendung von TLR-Agonisten in dieser Dosierung eine systemische Inflammation auslöst, ohne dass die stimulierten Tiere klinische Zeichen der Sepsis entwickelten (Markowski et al., 2013).

Im Anschluss an die Induktion der Inflammation erfolgte die Beatmung als sogenannter „second hit“, d.h. als zweiter Stimulus, der den Verlauf der Inflammation in Abhängigkeit vom gewählten Beatmungsregime verändern sollte. Als „second hit“- oder „Two hit“-Modell bezeichnet man bei Trauma, Sepsis oder Onkologischen Erkrankungen die Theorie, dass das Zusammentreffen zweier, gegebenenfalls auch einzeln subklinisch verlaufender Einflüsse auf einen Organismus in der Lage sind ein mitunter fulminantes Krankheitsbild oder Reaktion hervorzurufen. Im Rahmen der Sepsis entfallen bis zu 54% solcher zweiten Stimuli im Rahmen der Grunderkrankung auf pulmonale und beatmungsassoziierte Einflüsse (Engelmann und Petros, 2006).



Hierbei zeigte sich deutlich, dass unabhängig vom verwendeten inflammatorischen Stimulus eine Beatmung mit niedrigen Tidalvolumina eine signifikant geringere Immunantwort, gemessen an der pulmonalen Expression proinflammatorischer Zytokine, verursacht als eine Beatmung mit hohen Tidalvolumina (Abbildung 19, 20).

Das Modell der Beatmung im Rahmen einer systemischen Inflammation wurde gewählt, da es unserer Meinung nach am ehesten den klinischen Alltag unter dem Gesichtspunkt von perioperativer Mortalität und Morbidität abbildet.

Diese Form der Induktion einer systemischen Inflammation mit anschließender „second hit“-Intervention hat unsere Arbeitsgruppe auch für weitere Untersuchungen am Herzen verwendet (Boehm et al., 2013; Markowski et al., 2013; Stapel et al., 2006; Velten et al., 2012b).

Für die perioperative Mortalität und Morbidität ist die Sepsis eine der Hauptursachen (Rhodes et al., 2017). Pathogen-assoziierte Muster (PAMPs) und andere Virulenzfaktoren, hierunter vor allem bakterielle Verbindungen wie LPS und bakterielle DNA sind an perioperativ auftretenden inflammatorischen Prozessen beteiligt. Diese betreffen häufig die Lunge und bedingen hier durch Bindung an Toll-like Rezeptoren eine pulmonale Inflammation (Baumgarten et al., 2006; Ehrentraut et al., 2011; Knuefermann et al., 2007). Ebenfalls wird man im klinischen Alltag nahezu alle vital bedrohten, kritisch kranken Patienten mit invasiver Beatmungsunterstützung zur Sicherstellung der Organoxygenierung vorfinden.

Die durch ein aufgetretenes Lungenversagen oft notwendige mechanische Beatmung ist in sich bereits ein pathogener Faktor, der unter Umständen ein VILI auslösen kann.

Unterschiedliche experimentelle und klinische Studien untersuchten bereits die Auswirkungen verschiedenster Beatmungsstrategien zur protektiven Beatmung, um die Beatmungs-induzierten Schäden und inflammatorischen Prozesse möglichst gering zu halten (Butt et al., 2016; Griffiths et al., 2019; Tankersley et al., 1999; Zosky et al., 2008). Die Anzahl der Studien, die die Auswirkungen eben dieses protektiven Beatmungsregimes mit niedrigen Tidalvolumina auf die Lunge nach erfolgter Exposition gegenüber verschiedener Virulenzfaktoren untersuchen, ist jedoch begrenzt. Die vorliegende Arbeit simuliert hierbei die häufige klinische Situation, in der eine systemische Entzündungsreaktion eine mechanische Beatmung notwendig macht: Mittelpunkt des Interesses war hierbei, ob die

bereits in anderen Studien gezeigte protektive Beatmungsform mit niedrigen Atemzugvolumina auch im Rahmen der bereits stattfindenden systemischen und pulmonalen Inflammation den beatmungsassoziierten Lungenschaden (VILI) in geringerem Ausmaß verstärkt und ob sich der Effekt dieser Ventilationsstrategie von einer invasiveren Beatmungsform unterscheidet.

Wie bereits oben erwähnt, wurden in der Vergangenheit unterschiedlichste Tiermodelle etabliert, um die Auswirkungen der Überdruckbeatmung auf die pulmonale Inflammation und Funktion zu untersuchen (Wilson et al., 2003; Wilson und Takata, 2013). Hierbei wurde meist ein Tidalvolumen von 7-10 ml/kg KG verwendet, das dem für die Beatmung kritisch kranker Menschen entspricht (6-8 ml/kg KG) und laut aktuell gültigen Leitlinien empfohlen wird (Griffiths et al., 2019; Rhodes et al., 2017). Die Tidalvolumina, die für die HV-Gruppen gewählt wurden, waren höher als klinisch für menschliche Patienten empfohlen werden (Abbildung 3 – 6), jedoch zeigt sich, dass sowohl die Compliance der Lunge, als auch vor allem die Gesamtcompliance des Thorax von Mäusen höher sind als die des Menschen (Zosky et al., 2008). Ebenso sollten die verwendeten Beatmungsdrücke nur eine moderate Dehnung und Verletzung der Mauslunge bedingen (Bertok et al., 2012; Soutiere und Mitzner, 2004; Tankersley et al., 1999; Zosky et al., 2008). In der kurzen Zeit der Beatmung von meist 90–180min konnten die früher gebräuchlichen, moderat erhöhten Tidalvolumina von 12 ml/kg KG kein VILI auslösen (Wilson et al., 2012). In der vorliegenden Studie konnten wir somit Mäuse 90 Minuten lang mit Tidalvolumina von 7 ml/kg KG oder 25 ml/kg KG beatmen, ohne dass eines der untersuchten Tiere verstarb. Ebenfalls war es uns durch Verwendung eines angepassten Beatmungsgerätes erstmalig möglich, in der LV-Gruppe Tidalvolumina zu wählen, die denen des für menschliche Patienten mit ARDS empfohlenen von 6–8ml/kg KG entsprechen. Auch verwendeten nahezu alle bisherigen Untersucher für die HV-Gruppen Tidalvolumina größer als 30 ml/kg KG (Wilson et al., 2012).

Zur Untersuchung von direkten und indirekten Lungenschädigungen wurden zahlreiche Bakterien und Bakterienbestandteile verwendet, die wir innerhalb unserer Arbeitsgruppe auch für weitere Fragestellungen zur Organprotektion v.a. am Herzen eingesetzt haben. Um eine vergleichbare inflammatorische Induktion zu erreichen, ermittelten wir in Vorversuchen äquipotente Dosierungen für LPS, LTA und CPG-ODN (Baumgarten et al., 2006; Ehrentraut et al., 2011; Knuefermann et al., 2007; Markowski et al., 2013).

Um die Vergleichbarkeit zwischen verschiedenen systemischen entzündlichen Reizen herzustellen, verwendet die vorliegende Studie Virulenzdosierungen für LPS, 1612-Thioat und 1668-Thioat, die mit dem TNF-Aktivitätstest verifiziert und in früheren Studien aus unserem Labor verwendet wurden (Ehrentraut et al., 2011). Diese führten bei den behandelten Tieren allerdings zu einer starken systemischen, auch klinisch zu beobachtenden, Entzündungsreaktion mit hoher Letalität. Für das von uns gewählte Modell war aber ein sicheres Überleben für den gesamten Zeitraum der Beatmung ein wesentliches Kriterium, um eine mögliche Protektion/Schädigung des „second hit“ messen zu können. Deshalb wurde die in unserer Arbeitsgruppe ermittelte LPS-Dosierung in weiteren Vorversuchen an das Beatmungsmodell angepasst (Daten unveröffentlicht) und wurde schließlich auf  $1/20$  der ursprünglichen Dosis reduziert. Wir verwendeten nun  $1 \mu\text{g}/\text{kg}$  KG LPS und konnten hierbei keine klinisch apparenten Zeichen einer Inflammation (struppiges Fell, Apathie, Ess- und Trinkunlust, Fieber etc.) wahrnehmen. Die Dosierung für 1668-Thioat und 1612-Thioat entspricht ebenfalls einer in Vorversuchen verifizierten Dosierung, bei der eine laborchemisch messbare Immunantwort via Zytokinexpression, jedoch keine klinisch sichtbare Erkrankung vorlag (Boehm et al., 2013; Markowski et al., 2013; Stapel et al., 2006; Velten et al., 2012b). Keines der Versuchstiere verstarb vor Beginn der Beatmung. Eine Überdruckbeatmung hat auch stets direkte und indirekte Auswirkung auf die Hämodynamik und die Homöostase. Über die erhöhten intrathorakalen und intrapleurale Drücke im Rahmen der Beatmung kommt es zu einem verminderten venösen Rückstrom zum Herzen, zu einer erniedrigten linksatrialen Füllung und zu einem verminderten Herzzeitvolumen (HZV) (Downs et al., 1977). Die Verminderung des HZV ist in der Regel durch ein vermindertes Schlagvolumen bedingt (Kyhl et al., 2013).

Um diese mittelbaren Einflüsse auf die Expression der von uns gemessenen Zytokine und inflammatorischen Marker auszuschließen, wurde angestrebt, dass im Rahmen der Versuche weder durch den inflammatorischen Stimulus, noch durch die Beatmung direkt oder indirekt eine veränderte Hämodynamik mit veränderter Organperfusion oder Organoxygenierung auftrat.

Arterielle Mitteldrücke und die Körpertemperaturen unterschieden sich nicht zwischen den Gruppen, die mit hohen und welche mit niedrigen Tidalvolumina beatmet wurden (Abbildung 34 – 37, 42 – 45). Dies deutet darauf hin, dass eine Beatmungsstrategie mit niedri-

gem Tidalvolumen keinen Einfluss auf die hämodynamischen Parameter hatte. Der mittlere arterielle Blutdruck sank jedoch während der Dauer des Experiments in allen Gruppen unabhängig von der Beatmungsstrategie oder der Verabreichung des Virulenzfaktors (Abbildung 34 – 37). Diese Daten zeigen, dass unser Versuchsprotokoll die hämodynamische Stabilität in allen Gruppen über die Zeit diskret beeinflusst hat, ohne dass das Beatmungsprotokoll hierfür verantwortlich gemacht werden kann. Faktoren, die zu einem langsamen Absinken des Blutdrucks beitragen können, sind beatmungsassoziierter Änderung der intrapleurale und intrathorakale Druckverhältnisse und anästhesiebedingte negative Inotropie und Vasodilatation (Johnstone, 1976; Lippmann et al., 1983).

Über ein veränderbares Atemminutenvolumen ist der  $\text{PaCO}_2$  direkt beeinflussbar. Ein erhöhtes Atemminutenvolumen bedingt einen Abfall des  $\text{PaCO}_2$ . Über das Bicarbonatpuffer System im Blut erfolgt konsekutive eine Veränderung des Wasserstoffionengehalts des Blutes, der als pH-Änderung messbar wird (Lindinger und Heigenhauser, 2012). Somit kann über eine akute Änderung des pH-Werts bei unveränderter metabolischer Homöostaseologie ein Rückschluss über die  $\text{CO}_2$  Elimination und das Puffersystem im Blut geschlossen werden.

Diese homöostatischen Veränderungen können bei stärkeren Abweichungen ebenfalls die Hämodynamik beeinflussen (Samuelsson und Nagy, 1976). So kann es sowohl über ein akutes *cor pulmonale* durch hohe PEEP-Werte zu einem verminderten HZV, als auch zu verbesserter kardialer Auswurfleistung über einen gesamt erniedrigten intrathorakalen Druck im Rahmen von lungenprotektiven Beatmungsstrategien mit niedrigen Tidalvolumina kommen (Hering et al., 2017; Natalini et al., 2013).

Auch in unserem Versuchsaufbau haben sich die Ergebnisse der Blutgasanalyse im Verlauf der Beatmung verändert. Während es nur diskrete Auswirkungen der Atemzugvolumina oder der verwendeten Virulenzfaktoren auf den pH-Wert oder den Sauerstoffpartialdruck im Blut gab (Abbildung 22 – 29), wurden die Kohlendioxidpartialdrücke bei Mäusen mit niedrigem Tidalvolumen zu verschiedenen Zeitpunkten im Vergleich zu Tieren mit hohem Tidalvolumen unabhängig von den verwendeten Virulenzfaktoren erhöht (Abbildung 30 – 33). Diese Daten deuten darauf hin, dass die Beatmung mit niedrigem Tidalvolumen zu einer Hypoventilation führte und die von uns durchgeführte Erhöhung der Atemfrequenz die Ventilation mit niedrigem Tidalvolumen in Teilen kompensierte. Zwar steigt das Atemminutenvolumen nach 45 und 90 Minuten in den LV-Gruppen der mit LPS, 1612-

Thioat und 1668-Thioat stimulierten Mäusen wegen der erhöhten Atemfrequenz sogar an (Abbildung 16 – 18), jedoch nimmt die Totraumventilation proportional zur Beatmungsfrequenz zu, so dass ein nicht unerheblicher Teil des Atemzeitvolumens in der LV-Gruppe auf eine Totraumventilation entfällt und somit nicht am Gasaustausch teilnimmt. Somit nimmt die alveoläre Ventilation sogar ab. Die CO<sub>2</sub>-Werte lagen jedoch stets in klinisch tolerablen Bereichen im Sinne einer „permissiven Hyperkapnie“ (Abbildung 30 – 33). Das Konzept der permissiven Hyperkapnie beschreibt das Tolerieren erhöhter PaCO<sub>2</sub>-Werte (50-60 mmHg bzw. 6,7-8,0 kPa) zugunsten geringer Tidalvolumina (6 ml/kg KG) im Rahmen einer lungenprotektiven Beatmung (Amato et al., 1995; Stewart et al., 1998). Dabei kommt es in der Regel zu einem renalen Ausgleich der konsekutiven respiratorischen Azidose, so dass ein pH-Wert von >7,20 bestehen sollte. Für die permissive Hyperkapnie sind Beatmungseinstellungen evaluiert worden, die eine lungenprotektive Beatmung zulassen, auf der anderen Seite aber nicht dazu führen dürfen, dass zu hohe CO<sub>2</sub>-Partialdrücke entstehen. Diese könnten erhebliche negative Folgen wie zerebrale Krämpfe, Arrhythmien, intrapulmonale Shunts u.a. haben (AWMF, 2017). Während unseres Beatmungsprotokolls konnten sowohl alle geforderten Grenzwerte eingehalten werden, als auch jegliche möglichen oben angeführten Nebenwirkungen einer Hyperkapnie oder Hypoventilation vermieden werden.

Die Konzentration der Gesamtproteine in der BAL war in den Mäusen, die initial nur PBS injiziert bekamen, nach 90 Minuten Beatmung in beiden Ventilationsgruppen nicht erhöht (Abbildung 21), was darauf hindeutet, dass beide Arten der Beatmung bei gesunden Mäusen keine entzündliche Reaktion auslösten. Die Tatsache, dass eine Beatmung mit höheren Tidalvolumina und die damit verbundenen höheren Beatmungsdrücke keine pulmonale Zytokinexpression induzieren, steht im Einklang mit früheren Studien (Wilson et al., 2012). Im Gegensatz zu den Kontrolltieren führte die Vorbehandlung mit 1612-Thioat und 1668-Thioat nach 90 min Beatmung mit hohen Tidalvolumina zu einer signifikanten Erhöhung der Gesamtproteinkonzentrationen in der BAL (Abbildung 21). TNF- $\alpha$  war nach 90 min HV-Beatmung nach in den mit LPS und 1668-Thioat vorbehandelten Mäusen erhöht (Abbildung 20) und IL-1 $\beta$  stieg lediglich nach der Applikation LPS in der HV-Gruppe nach 90 min signifikant in der BAL an (Abbildung 19). Die Tatsache, dass die Beatmung mit niedrigen Tidalvolumina keine Erhöhung der pulmonal exprimierten Zytokine induziert hat,

ist überraschend. Da TNF- $\alpha$  und IL-1 $\beta$  Regulatoren der Immunantwort des Wirtes bei Lungenentzündungen und vielversprechende Biomarker für die Vorhersage von Morbidität und Mortalität bei ARDS sind, kommen wir zu dem Schluss, dass bei systemischen Entzündungen, hohe Tidalvolumina eine zusätzliche inflammatorische Reaktion induzieren, die zu einem VILI führt, während niedrige Tidalvolumina vor der Ausbildung einer zusätzlichen pulmonalen Inflammation schützen und möglicherweise die Entwicklung eines VILI in einem murinen Modell der TLR-Agonisten-induzierten Lungenentzündung verhindern könnten (Butt et al., 2016).

Die Marker für Lungenverletzungen und Inflammation nahmen nach 90 Minuten Beatmung mit hohen Tidalvolumina unterschiedlich zu. Während die Konzentration von TNF- $\alpha$  und IL-1 $\beta$  bei LPS-stimulierten Mäusen erhöht wurden (Abbildung 19, 20), wurde nur TNF- $\alpha$  bei den Mäusen nach Beatmung mit hohen Tidalvolumina erhöht, die mit 1668-Thioat stimuliert wurden (Abbildung 20), was darauf hindeutet, dass die Mäuse, die LPS injiziert bekamen, anfälliger für VILI sind als mit 1668-ODN stimulierte Tiere. Diese Beobachtung steht im Einklang mit früheren Studien, in denen berichtet wurde, dass die pulmonale Anfälligkeit für systemische Entzündungen nach der Stimulation mit äquivalenten Dosierungen verschiedener TLR-Agonisten nach LPS höher war als nach CpG-ODN (Ehrentraut et al., 2011)(16). Dies ist vor allem vor dem Hintergrund bemerkenswert, dass in dieser Versuchsreihe eben nicht äquipotente Dosierungen verwendet wurden. So liegt die Dosierung der CpG-Oligodinukleotide um den Faktor 4 höher als die äquipotente Dosis von LPS. Beide von uns verwendeten Dosierungen eigneten sich in Vorversuchen unserer Arbeitsgruppe jedoch, um im Rahmen einer Präkonditionierung mit TLR-Liganden ein myokardiales Ischämieareal oder die Einschränkung myokardialer Funktionsparameter zu verringern (Boehm et al., 2013; Markowski et al., 2013; Stapel et al., 2006; Velten et al., 2012b).

Die hier gezeigte Studie hat Limitationen. So wurde die Verabreichung einzelner TLR-Agonisten als reproduzierbares, gut kontrollierbares Tiermodell verwendet, wohingegen in der klinischen Realität stets eine mannigfaltige Kombination an PAMPs im Rahmen z.B. einer Bakteriämie vorliegt, die mehrere TLRs gleichzeitig aktivieren. Die Verwendung von spezifischen TLR-Agonisten in einem kontrollierten Modell bietet jedoch den Vorteil, eine reproduzierbare Entzündung zu induzieren und wurde daher bereits in zahlreichen Studien (Baumgarten et al., 2006; Knuefermann et al., 2007; Velten et al., 2012a) eingesetzt.

Darüber hinaus waren die in der HV-Gruppe verwendeten Tidalvolumina höher als sie für Patienten empfohlen werden. Eine Anwendung an der Maus war hierbei in dieser Form möglich, da die Tiere eine solche Beatmung aufgrund einer vom Menschen differenten Atemphysiologie ohne Verletzung des Lungengewebes tolerieren (Baumgarten et al., 2006; Ehrentraut et al., 2011; Knuefermann et al., 2007). In der durchgeführten Arbeit wurden ebenfalls keine makroskopischen Lungenverletzung bei gesunden Mäusen gesehen, was unsere Annahme bekräftigt, dass die hierin verwendeten Drücke während des untersuchten Zeitverlaufs für die Mauslunge nicht schädlich sind. Dementsprechend erlaubt uns dieses Modell, die mit der Beatmung verbundene Lungenverletzung in einem Modell der systemischen Entzündung zu untersuchen.

Zusammenfassend zeigen unsere Ergebnisse, dass die verwendeten Beatmungsmodi beide geeignet sind, um Mäuse nach einer Vorbehandlung mit unterschiedlichen TLR-Agonisten 90 min zu beatmen und ausreichend mit Sauerstoff zu versorgen, ohne dass die Tiere während der Versuchsdauer versterben. In der mit PBS vorbehandelten Kontrollgruppe führte zum einen die Beatmung mit niedrigen Tidalvolumina zu keiner in der BAL messbaren Inflammation der Lunge. Zum anderen führte auch die Ventilation mit hohen Tidalvolumina zu keiner messbaren pulmonalen Inflammation, obwohl die Tiere hier mit Volumina beatmet wurden, die höher waren als die am Menschen verwendeten. Wurden die Tiere jedoch mit TLR-Liganden vorbehandelt, führte die Beatmung mit niedrigen Tidalvolumina im Gegensatz zur HV-Ventilation trotz einer systemisch und pulmonal messbaren Inflammation zu keiner weiteren Schädigung im Sinne eines „second hit“. Daher kommen wir zu dem Schluss, dass eine Beatmung mit niedrigem Tidalvolumen eine vorteilhafte Strategie sein kann, um weitere Lungenschäden im Rahmen einer bereits laufenden systemischen und pulmonalen Entzündung zu verhindern.

## 5. Zusammenfassung

Die vorgelegte Arbeit hatte das Ziel, den Einfluss unterschiedlicher Beatmungsstrategien im Rahmen einer systemischen Inflammation auf die pulmonale Entzündungsreaktion zu untersuchen. In einem murinen Modell wurde hierbei die systemische Entzündungsreaktion mit verschiedenen TLR-Agonisten induziert und im Anschluss entweder mit niedrigen Tidalvolumina (low-volume-ventilation) oder hohen Tidalvolumina (high-volume Ventilation) beatmet. Als Hypothese lag zugrunde, dass eine Beatmung mit niedrigen Atemhubvolumina einen subklinisch bestehenden Lungenschaden im Rahmen einer systemischen Inflammation weniger ausgeprägt verstärkt als eine Ventilation mit hohen Tidalvolumina. Insgesamt konnten wir zeigen, dass beide verwendeten Beatmungsmodi in der Lage sind, mit TLR-Agonisten vorbehandelte Mäuse 90 min bei ausreichender Sauerstoffversorgung zu ventilieren, ohne dass die Tiere während der Versuchsdauer verstarben.

Eine Beatmung mit niedrigen Tidalvolumina führte in der mit PBS vorbehandelten Kontrollgruppe zu keiner in der BAL messbaren Inflammation der Lunge. Gleiches konnten wir auch bei der Ventilation mit hohen Tidalvolumina beobachten: Auch hier kam es zu keiner messbaren pulmonalen Inflammation, obwohl die Tiere hier mit Volumina beatmet wurden, die in Relation höher waren als die klinisch am Menschen verwendeten. Im Gegensatz hierzu konnte eine Beatmung mit niedrigen Tidalvolumina in mit TLR-Liganden vorbehandelt Tieren trotz einer pulmonal messbaren Inflammation keine weitere Schädigung induzieren.

Im Rahmen einer systemischen und pulmonalen Entzündung könnte daher eine Beatmung mit niedrigen Tidalvolumina eine vorteilhafte Strategie sein, um weitere Lungenschäden zu verringern oder im Idealfall sogar zu verhindern.



## 6. Literaturverzeichnis

Amato MB, Barbas CS, Medeiros DM, Schettino Gde P, Lorenzi Filho G, Kairalla RA, Deheinzelin D, Morais C, Fernandes Ede O, Takagaki TY, et al. 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.* 1995 Dec;152(6 Pt 1):1835-1846.

AWMF, 2017: S3-Leitlinie Invasive Beatmung und Einsatz extrakorporaler Verfahren bei akuter respiratorischer Insuffizienz. Internet: [http://www.awmf.org\\_\\_\\_001-021I\\_S3\\_Invasive\\_Beatmung\\_2017-12](http://www.awmf.org___001-021I_S3_Invasive_Beatmung_2017-12) (Zugriffsdatum 01.10.2019)

Bachofen M, Weibel ER. Structural alterations of lung parenchyma in the adult respiratory distress syndrome. *Clin Chest Med.* 1982 Jan;3(1):35-56.

Baumgarten G, Knuefermann P, Wrigge H, Putensen C, Stapel H, Fink K, Meyer R, Hoeft A, Grohe C. Role of Toll-like receptor 4 for the pathogenesis of acute lung injury in Gram-negative sepsis. *Eur J Anaesthesiol.* 2006 Dec;23(12):1041-1048.

Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, Carlet J, Falke K, Hudson L, Lamy M, Legall JR, Morris A, Spragg R. The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994 Mar;149(3 Pt 1):818-824.

Bertok S, Wilson MR, Morley PJ, de Wildt R, Bayliffe A, Takata M. Selective inhibition of intra-alveolar p55 TNF receptor attenuates ventilator-induced lung injury. *Thorax.* 2012 Mar;67(3):244-251.

Boehm O, Markowski P, van der Giet M, Gielen V, Kokalova A, Brill C, Hoeft A, Baumgarten G, Meyer R, Knuefermann P. In vivo TLR9 inhibition attenuates CpG-induced myocardial dysfunction. *Mediators Inflamm.* 2013;2013:217297.

Brower RG, Matthay MA, Morris A, Schoenfeld D, Thompson BT, Wheeler A, Network ARDS. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 2000 May 4;342(18):1301-1308.

Butt Y, Kurdowska A, Allen TC. Acute Lung Injury: A Clinical and Molecular Review. *Arch Pathol Lab Med*. 2016 Apr;140(4):345-350.

Cantwell SL. Ferret, rabbit, and rodent anesthesia. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*. 2001 Jan;4(1):169-191.

Carlton DP, Cummings JJ, Scheerer RG, Poulain FR, Bland RD. Lung overexpansion increases pulmonary microvascular protein permeability in young lambs. *J Appl Physiol* (1985). 1990 Aug;69(2):577-583.

Coker PJ, Hernandez LA, Peevy KJ, Adkins K, Parker JC. Increased sensitivity to mechanical ventilation after surfactant inactivation in young rabbit lungs. *Crit Care Med*. 1992 May;20(5):635-640.

Cooper JA, van der Zee H, Line BR, Malik AB. Relationship of end-expiratory pressure, lung volume, and 99mTc-DTPA clearance. *J Appl Physiol* (1985). 1987 Oct;63(4):1586-1590.

Davidson AC, Banham S, Elliott M, Kennedy D, Gelder C, Glossop A, Church AC, Creagh-Brown B, Dodd JW, Felton T, Foex B, Mansfield L, McDonnell L, Parker R, Patterson CM, Sovani M, Thomas L, Bts Standards of Care Committee Member BTSICSAHRFGDGObotBTSSoCC. BTS/ICS guideline for the ventilatory management of acute hypercapnic respiratory failure in adults. *Thorax*. 2016 Apr;71 Suppl 2:ii1-35.

Downs JB, Douglas ME, Sanfelippo PM, Stanford W, Hodges MR. Ventilatory pattern, intrapleural pressure, and cardiac output. *Anesth Analg*. 1977 Jan-Feb;56(1):88-96.

Dreyfuss D, Basset G, Soler P, Saumon G. Intermittent positive-pressure hyperventilation with high inflation pressures produces pulmonary microvascular injury in rats. *Am Rev Respir Dis.* 1985 Oct;132(4):880-884.

Dreyfuss D, Soler P, Basset G, Saumon G. High inflation pressure pulmonary edema. Respective effects of high airway pressure, high tidal volume, and positive end-expiratory pressure. *Am Rev Respir Dis.* 1988 May;137(5):1159-1164.

Dreyfuss D, Saumon G. Barotrauma is volutrauma, but which volume is the one responsible? *Intensive Care Med.* 1992;18(3):139-141.

Dreyfuss D, Soler P, Saumon G. Spontaneous resolution of pulmonary edema caused by short periods of cyclic overinflation. *J Appl Physiol (1985).* 1992 Jun;72(6):2081-2089.

Dreyfuss D, Saumon G. Role of tidal volume, FRC, and end-inspiratory volume in the development of pulmonary edema following mechanical ventilation. *Am Rev Respir Dis.* 1993 Nov;148(5):1194-1203.

Dreyfuss D, Saumon G. Ventilator-induced lung injury: lessons from experimental studies. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998a Jan;157(1):294-323.

Dreyfuss D, Saumon G. From ventilator-induced lung injury to multiple organ dysfunction? *Intensive Care Med.* 1998b Feb;24(2):102-104.

Ehrentraut H, Meyer R, Schwederski M, Ehrentraut S, Velten M, Grohe C, Knuefermann P, Baumgarten G, Boehm O. Systemically administered ligands of Toll-like receptor 2, -4, and -9 induce distinct inflammatory responses in the murine lung. *Mediators Inflamm.* 2011;2011:746532.

Engelmann L, Petros S. [Identification of patients suitable for therapy with activated Protein C]. *Anaesthesist.* 2006 Jun;55 Suppl 1:24-29.

Fishman AP. Pulmonary edema. The water-exchanging function of the lung. *Circulation*. 1972 Aug;46(2):390-408.

Gattinoni L, D'Andrea L, Pelosi P, Vitale G, Pesenti A, Fumagalli R. Regional effects and mechanism of positive end-expiratory pressure in early adult respiratory distress syndrome. *JAMA*. 1993 Apr 28;269(16):2122-2127.

Gattinoni L, Bombino M, Pelosi P, Lissoni A, Pesenti A, Fumagalli R, Tagliabue M. Lung structure and function in different stages of severe adult respiratory distress syndrome. *JAMA*. 1994 Jun 8;271(22):1772-1779.

Gattinoni L, Pelosi P, Suter PM, Pedoto A, Vercesi P, Lissoni A. Acute respiratory distress syndrome caused by pulmonary and extrapulmonary disease. Different syndromes? *Am J Respir Crit Care Med*. 1998 Jul;158(1):3-11.

Griffiths MJD, McAuley DF, Perkins GD, Barrett N, Blackwood B, Boyle A, Chee N, Connolly B, Dark P, Finney S, Salam A, Silversides J, Tarmey N, Wise MP, Baudouin SV. Guidelines on the management of acute respiratory distress syndrome. *BMJ Open Respir Res*. 2019;6(1):e000420.

Haake R, Schlichtig R, Ulstad DR, Henschen RR. Barotrauma. Pathophysiology, risk factors, and prevention. *Chest*. 1987 Apr;91(4):608-613.

Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T, Kaisho T, Sato S, Sanjo H, Matsumoto M, Hoshino K, Wagner H, Takeda K, Akira S. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature*. 2000 Dec 7;408(6813):740-745.

Hering R, Kreyer S, Putensen C. Effects of lung protective mechanical ventilation associated with permissive respiratory acidosis on regional extra-pulmonary blood flow in experimental ARDS. *BMC Anesthesiol*. 2017 Oct 27;17(1):149.

Johnstone M. The cardiovascular effects of ketamine in man. *Anaesthesia*. 1976 Sep;31(7):873-882.

Julien M, Flick MR, Hoeffel JM, Murray JF. Accurate reference measurement for postmortem lung water. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*. 1984 Jan;56(1):248-253.

Kawano T, Mori S, Cybulsky M, Burger R, Ballin A, Cutz E, Bryan AC. Effect of granulocyte depletion in a ventilated surfactant-depleted lung. *J Appl Physiol* (1985). 1987 Jan;62(1):27-33.

Knuefermann P, Baumgarten G, Koch A, Schwederski M, Velten M, Ehrentraut H, Mersmann J, Meyer R, Hoeffel A, Zacharowski K, Grohe C. CpG oligonucleotide activates Toll-like receptor 9 and causes lung inflammation in vivo. *Respir Res*. 2007 Oct 9;8:72.

Krieg AM, Yi AK, Matson S, Waldschmidt TJ, Bishop GA, Teasdale R, Koretzky GA, Klinman DM. CpG motifs in bacterial DNA trigger direct B-cell activation. *Nature*. 1995 Apr 6;374(6522):546-549.

Kyhl K, Ahtarovski KA, Iversen K, Thomsen C, Vejlstrup N, Engstrom T, Madsen PL. The decrease of cardiac chamber volumes and output during positive-pressure ventilation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2013 Oct 1;305(7):H1004-1009.

Lachmann B. Open up the lung and keep the lung open. *Intensive Care Med*. 1992;18(6):319-321.

Li J, Ma Z, Tang ZL, Stevens T, Pitt B, Li S. CpG DNA-mediated immune response in pulmonary endothelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2004 Sep;287(3):L552-558.

Lindinger MI, Heigenhauser GJ. Effects of gas exchange on acid-base balance. *Compr Physiol*. 2012 Jul;2(3):2203-2254.

Lippmann M, Appel PL, Mok MS, Shoemaker WC. Sequential cardiorespiratory patterns of anesthetic induction with ketamine in critically ill patients. *Crit Care Med*. 1983 Sep;11(9):730-734.

Ludwigs U, Philip A, Robertson B, Hedenstierna G. Pulmonary epithelial permeability. An animal study of inverse ratio ventilation and conventional mechanical ventilation. *Chest*. 1996 Aug;110(2):486-493.

Macklin M. Malignant interstitial emphysema of the lungs and mediastinum as an important occult complication in many respiratory diseases and other conditions: an interpretation of the clinical literature in the light of laboratory experiment. *Medicine*. 1944 Dec 1944;23(4):281-358.

Markowski P, Boehm O, Goelz L, Haesner AL, Ehrentraut H, Bauerfeld K, Tran N, Zacharowski K, Weisheit C, Langhoff P, Schwederski M, Hilbert T, Klaschik S, Hoefft A, Baumgarten G, Meyer R, Knuefermann P. Pre-conditioning with synthetic CpG-oligonucleotides attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury via IL-10 up-regulation. *Basic Res Cardiol*. 2013 Sep;108(5):376.

Marshall BE, Wyche MQ, Jr. Hypoxemia during and after anesthesia. *Anesthesiology*. 1972 Aug;37(2):178-209.

Natalini G, Minelli C, Rosano A, Ferretti P, Militano CR, De Feo C, Bernardini A. Cardiac index and oxygen delivery during low and high tidal volume ventilation strategies in patients with acute respiratory distress syndrome: a crossover randomized clinical trial. *Crit Care*. 2013 Jul 23;17(4):R146.

Nishimura M, Naito S. Tissue-specific mRNA expression profiles of human toll-like receptors and related genes. *Biol Pharm Bull.* 2005 May;28(5):886-892.

Parker JC, Hernandez LA, Longenecker GL, Peevy K, Johnson W. Lung edema caused by high peak inspiratory pressures in dogs. Role of increased microvascular filtration pressure and permeability. *Am Rev Respir Dis.* 1990 Aug;142(2):321-328.

Pawar RD, Ramanjaneyulu A, Kulkarni OP, Lech M, Segerer S, Anders HJ. Inhibition of Toll-like receptor-7 (TLR-7) or TLR-7 plus TLR-9 attenuates glomerulonephritis and lung injury in experimental lupus. *J Am Soc Nephrol.* 2007 Jun;18(6):1721-1731.

Poltorak A, He X, Smirnova I, Liu MY, Van Huffel C, Du X, Birdwell D, Alejos E, Silva M, Galanos C, Freudenberg M, Ricciardi-Castagnoli P, Layton B, Beutler B. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. *Science.* 1998 Dec 11;282(5396):2085-2088.

Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, Fan E, Camporota L, Slutsky AS, Force ADT. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *JAMA.* 2012 Jun 20;307(23):2526-2533.

Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, Kumar A, Sevransky JE, Sprung CL, Nunnally ME, Rochweg B, Rubenfeld GD, Angus DC, Annane D, Beale RJ, Bellingham GJ, Bernard GR, Chiche JD, Coopersmith C, De Backer DP, French CJ, Fujishima S, Gerlach H, Hidalgo JL, Hollenberg SM, Jones AE, Karnad DR, Kleinpell RM, Koh Y, Lisboa TC, Machado FR, Marini JJ, Marshall JC, Mazuski JE, McIntyre LA, McLean AS, Mehta S, Moreno RP, Myburgh J, Navalesi P, Nishida O, Osborn TM, Perner A, Plunkett CM, Ranieri M, Schorr CA, Seckel MA, Seymour CW, Shieh L, Shukri KA, Simpson SQ, Singer M, Thompson BT, Townsend SR, Van der Poll T, Vincent JL, Wiersinga WJ, Zimmerman JL, Dellinger RP. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med.* 2017 Mar;43(3):304-377.

Samuelsson RG, Nagy G. Effects of respiratory alkalosis and acidosis on myocardial excitation. *Acta Physiol Scand*. 1976 Jun;97(2):158-165.

Schröder NW, Arditi M. The role of innate immunity in the pathogenesis of asthma: evidence for the involvement of Toll-like receptor signaling. *J Endotoxin Res*. 2007;13(5):305-312.

Slutsky AS, Tremblay LN. Multiple system organ failure. Is mechanical ventilation a contributing factor? *Am J Respir Crit Care Med*. 1998 Jun;157(6 Pt 1):1721-1725.

Slutsky AS. Lung injury caused by mechanical ventilation. *Chest*. 1999 Jul;116(1 Suppl):9S-15S.

Soutiere SE, Mitzner W. On defining total lung capacity in the mouse. *J Appl Physiol* (1985). 2004 May;96(5):1658-1664.

Stapel H, Kim SC, Osterkamp S, Knuefermann P, Hoeft A, Meyer R, Grohe C, Baumgarten G. Toll-like receptor 4 modulates myocardial ischaemia-reperfusion injury: Role of matrix metalloproteinases. *Eur J Heart Fail*. 2006 Nov;8(7):665-672.

Stewart TE, Meade MO, Cook DJ, Granton JT, Hodder RV, Lapinsky SE, Mazer CD, McLean RF, Rogovein TS, Schouten BD, Todd TR, Slutsky AS. Evaluation of a ventilation strategy to prevent barotrauma in patients at high risk for acute respiratory distress syndrome. Pressure- and Volume-Limited Ventilation Strategy Group. *N Engl J Med*. 1998 Feb 5;338(6):355-361.

Takeda K, Akira S. Toll-like receptors. *Curr Protoc Immunol*. 2015 Apr 1;109:14 12 11-10.

Takeuchi O, Hoshino K, Kawai T, Sanjo H, Takada H, Ogawa T, Takeda K, Akira S. Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components. *Immunity*. 1999 Oct;11(4):443-451.



Tankersley CG, Rabold R, Mitzner W. Differential lung mechanics are genetically determined in inbred murine strains. *J Appl Physiol* (1985). 1999 Jun;86(6):1764-1769.

Teplitz C. The core pathobiology and integrated medical science of adult acute respiratory insufficiency. *Surg Clin North Am*. 1976 Oct;56(5):1091-1133.

Tocino I, Westcott JL. Barotrauma. *Radiol Clin North Am*. 1996 Jan;34(1):59-81.

Tremblay L, Valenza F, Ribeiro SP, Li J, Slutsky AS. Injurious ventilatory strategies increase cytokines and c-fos m-RNA expression in an isolated rat lung model. *J Clin Invest*. 1997 Mar 1;99(5):944-952.

Tsuno K, Miura K, Takeya M, Kolobow T, Morioka T. Histopathologic pulmonary changes from mechanical ventilation at high peak airway pressures. *Am Rev Respir Dis*. 1991 May;143(5 Pt 1):1115-1120.

Velten M, Britt RD, Jr., Heyob KM, Welty SE, Eiberger B, Tipple TE, Rogers LK. Prenatal inflammation exacerbates hyperoxia-induced functional and structural changes in adult mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2012a Aug 1;303(3):R279-290.

Velten M, Duerr GD, Pessies T, Schild J, Lohner R, Mersmann J, Dewald O, Zacharowski K, Klaschik S, Hilbert T, Hoefft A, Baumgarten G, Meyer R, Boehm O, Knuefermann P. Priming with synthetic oligonucleotides attenuates pressure overload-induced inflammation and cardiac hypertrophy in mice. *Cardiovasc Res*. 2012b Dec 1;96(3):422-432.

Villar J, Zhang H, Slutsky AS. Lung Repair and Regeneration in ARDS: Role of PECAM1 and Wnt Signaling. *Chest*. 2019 Mar;155(3):587-594.

Vlahakis NE, Schroeder MA, Limper AH, Hubmayr RD. Stretch induces cytokine release by alveolar epithelial cells in vitro. *Am J Physiol*. 1999 Jul;277(1):L167-173.

Weaver LK, Morris A. Venous and arterial gas embolism associated with positive pressure ventilation. *Chest*. 1998 Apr;113(4):1132-1134.

Wilson MR, Choudhury S, Goddard ME, O'Dea KP, Nicholson AG, Takata M. High tidal volume upregulates intrapulmonary cytokines in an in vivo mouse model of ventilator-induced lung injury. *J Appl Physiol (1985)*. 2003 Oct;95(4):1385-1393.

Wilson MR, Patel BV, Takata M. Ventilation with "clinically relevant" high tidal volumes does not promote stretch-induced injury in the lungs of healthy mice. *Crit Care Med*. 2012 Oct;40(10):2850-2857.

Wilson MR, Takata M. Inflammatory mechanisms of ventilator-induced lung injury: a time to stop and think? *Anaesthesia*. 2013 Feb;68(2):175-178.

Woo SW, Hedley-Whyte J. Macrophage accumulation and pulmonary edema due to thoracotomy and lung over inflation. *J Appl Physiol*. 1972 Jul;33(1):14-21.

Zosky GR, Janosi TZ, Adamicza A, Bozanich EM, Cannizzaro V, Larcombe AN, Turner DJ, Sly PD, Hantos Z. The bimodal quasi-static and dynamic elastance of the murine lung. *J Appl Physiol (1985)*. 2008 Aug;105(2):685-692.

## 7. Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Pascal Knüfermann und Prof. Dr. med. Georg Baumgarten danke ich für die Überlassung des Themas, die gute Betreuung und die Möglichkeit erste wissenschaftliche Erfahrungen im Rahmen des BONFOR Promotionsstipendiums in ihrer Arbeitsgruppe zu sammeln.

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. Markus Velten und Herrn PD Dr. med. Olaf Boehm für die freundschaftliche und nachdrückliche Motivation und gute wissenschaftliche Betreuung, vor allem zum Zeitpunkt der Fertigstellung der Promotionsarbeit.

Herrn PD Dr. med. Ulf Günther und Herrn Dr. med. Daniel Huse danke ich für die Einarbeitung und stets kollegiale und freundschaftliche Hilfe bei der Durchführung der tierexperimentellen Versuche.

Ganz herzlich bedanken möchte ich mich auch bei Frau Dr. rer. nat. Heidi Ehentraut, Herrn Patrick Effertz, Herrn Dr. rer. nat. Markus Schwederski und allen anderen Mitarbeitern und Doktoranden in den wissenschaftlichen Laboren der medizinischen Poliklinik und des physiologischen Instituts, die mich bei meiner Arbeit unterstützt haben.

Vor allem danke ich meiner Frau Anne, die mich in all unseren gemeinsamen Jahren immer persönlich und fachlich unterstützt hat.