

Research Days

12. – 13. November 2021
Zentraler Hörsaal (Haus 22)

Abstractverzeichnis

1. Immunphenotyping of antiviral immune cells and in vitro investigation of immune cell alterations to SARS-CoV-2 spike proteins in coronary artery disease.....	3
2. MC-derived TNF is crucial for resolution of skin inflammation and tissue remodeling.	3
3. Coordinated action of innate lymphoid cells 2 and a plant hormone to mitigate endothelial inflammasome	4
4. Analysis of the role of long-non-codingRNA LINC00992 in breast cancer.....	5
5. Normoxische HIF-1 α -Stabilisierung an der Gefäßbarriere im Kontext der Atherosklerose.....	6
6. C9 als Biomarker zur Identifikation von periprothetischen Gelenksinfektionen.....	7
7. Mucosal associated invariant T (MAIT) cells from Clostridioides difficile infected patients exhibit a distinct proinflammatory phenotype and enhanced cytotoxic activity	8
8. Resolved Influenza A Virus Infections has extended effects on lung homeostasis and attenuates allergic airway inflammation in a mouse model.....	9
9. Aufbau eines 3D-Lungentumormodells und Analyse der Umprogrammierung von Fibroblasten in CAFs.....	10
10. Sex-dependent role of orexin in mouse behavioral endophenotypes of neuropsychiatric disorders	11
11. Examination regarding the degradation of the Hypoxia-inducible factor alpha (HIF-1 α) via microscopic procedure	12
12. TLR1 SNP rs4833095 Genotyp ist nicht mit der Inflammation bei einer H. pylori-negativen Gastritis assoziiert	13

13. Impact of HCA2/Gpr109a receptor signaling on allergic inflammation in the skin	14
14. The capacity of mast cells to translate skin inflammation into systemic effects	15
15. DNA-binding protein A (DbpA) is actively secreted in a calcium dependent manner by rat mesangial and melanoma cells	15
16. Age-related differences in problem-solving and learning by insight	16
17. Einfluss von Strukturparametern auf Qualitäts-indikatoren der Notaufnahme ...	17
18. Einfluss von antibakteriellen Implantat-beschichtungen auf die Viabilität von grampositiven und gramnegativen Bakterien und die in vitro Mineralisierung	18
19. Evaluation des Rupturrisikos von multiplen intrakraniellen Aneurysmen.....	19
20. Antibacterial modification of the marginal zone by silver-integrated EDM processing of TiAl6V4 implant material	20
21. Optimierung der Organperfusion in einem ex-vivo Lungenperusionsmodell....	21
22. The inositol-1,4,5-trisphosphate-3-kinase-A is a putative regulator of social interaction and motor function.....	22
23. Aufbau, Optimierung und Charakterisierung eines 3D-humanen Atemwegsmodells als Infektionsmodell	22
24. Vaskuläre Ursachen kognitiver Defizite bei Patienten mit zerebraler Mikroangiopathie.....	23
25. The cellular defense mechanism against tubular ischemia is mediated through cold shock protein DbpA	24

1. Immunophenotyping of antiviral immune cells and in vitro investigation of immune cell alterations to SARS-CoV-2 spike proteins in coronary artery disease

Stavridis D, Wacker M, Wippermann J, Veluswamy P.

Heart Surgery Research, Department of Cardiothoracic Surgery, Faculty of Medicine, Otto-von Guericke University, D-39120 Magdeburg, Germany.

COVID-19 (coronavirus disease-2019) is caused by a novel strain, the SARS-CoV-2. Mounting of antiviral immunity towards SARS-CoV-2 was greatly impaired among patients with coronary artery disease (CAD). Thus, the main aim of the study is to investigate the pre-existing antiviral innate and adaptive immune status among CAD patients. In addition, functional alterations with cellular immune responses under the influence of SARS-CoV-2 spike proteins are being investigated, underscoring the fact that CAD patients are more vulnerable to COVID-19 due to underlying chronic inflammation, which dysregulates the antiviral immune mechanisms. For this purpose, blood samples from 30 CAD patients and 30 normal controls are examined for the immunophenotypic characterization of **a)** expression patterns of SARS-CoV-2 cognate receptors (ACE2 and CD147) on blood monocytes, lymphocytes and granulocytes; **b)** blood circulating frequencies of MAIT cells expressing migration markers (CCR5 and CCR6), cytokine receptor (IL-18R) and ACE2, **b)** blood circulating frequencies of CD4⁺ and CD8⁺ T cells and their activation (CD25, CD69) and exhaustion markers (PD-1, Tim-3). Here, the immune phenotyping was performed using flow cytometry (FACS). Furthermore, functional outcomes of mononuclear cells in response to titrated SARS-CoV-2 spike proteins are being investigated in a Chandler loop system, stimulating the extracorporeal blood circulation, and in a static culture condition, in terms of **a)** T cell proliferation and, **b)** apoptosis respectively, where FACS and fluorescent microscopy were employed. Interestingly, we have observed significantly decreased MAIT cells frequencies, while the CD8⁺ MAIT cells were significantly increased among CAD patients in comparison with normal controls, indicating the fact that increased CD8⁺ MAIT cells could merely act as the Th17 cell type with increased susceptibility to apoptosis. Of note, ACE2 expression is minimal in lymphocytes, followed by granulocytes and highly expressed in monocytes. Importantly, functional cellular immune responses to SARS-CoV-2 spike proteins are currently being investigated.

2. MC-derived TNF is crucial for resolution of skin inflammation and tissue remodeling.

Martin Voss¹, Konstantinos Katsoulis-Dimitriou¹, Anne Dudeck^{1,2}

¹Institute for Molecular and Clinical Immunology, Otto-von-Guericke University Magdeburg

²Health Campus Immunology, Infectiology and Inflammation, Otto-von-Guericke University, Magdeburg

Mast cells (MCs) are tissue resident immune cells, which are well known for their detrimental role in allergy. However, MCs also contribute critically to inflammation

and host defense by orchestrating innate and adaptive immune responses. The underlying mechanisms are still barely understood. Herein, we studied the role of MC-derived tumor necrosis factor (TNF) in contact hypersensitivity (CHS) induced skin inflammation. We found that, upon contact allergen (hapten) sensitization, MC-derived TNF promotes CD8⁺ DC maturation and migration and consequently CD8⁺ T cell priming. Upon reexposure to the hapten, the acute phase of skin inflammation was reduced in absence of MC-derived TNF but subsequently prolonged with an increased ear thickness at later time points. Questioning the underlying mechanism, we found that at early time points of CHS neutrophil, inflammatory monocyte and CD8⁺ T cell recruitment to the skin was impaired in absence of MC-derived TNF. At later time points, however, the number of alternatively activated macrophages, as well as the production of the anti-inflammatory cytokine IL-10 was reduced in the absence of MC-derived TNF. Moreover, the level of the neutrophil-derived matrix metalloproteinase (MMP) -8 and monocyte-derived proMMP-9, which are both crucial for collagen degradation and proper tissue restoration, were significantly reduced. Intriguingly, the monocyte recruitment could be rescued by the transfer of primed CD8⁺ T cells from sensitized wildtype mice, suggesting an indirect effect of MC-derived on the recruitment of monocytes via an adequate priming of CD8⁺ T cells.

In conclusion, a prompt and sufficient initiation of inflammatory immune responses by MC-derived TNF is crucial for subsequent resolution and tissue regeneration.

3. Coordinated action of innate lymphoid cells 2 and a plant hormone to mitigate endothelial inflammasome

Nicola Testa¹, Max Wacker¹, Jens Wippermann¹ and Priya Veluswamy¹

¹Heart Surgery Research, Departemnt of cardiotheoracic surgery, Medical faculty of Otto-von-Guericke University, Magdeburg, Germany

Background: Though vascular endothelial cells (VECs) play a critical role in the initiation of cardiovascular inflammation, the macrophages and T cells defines the formation of mature atherosclerotic lesions. But, Group 2 innate lymphoid cells (ILC2s), a separate cell lineage distinct from the natural killers cells, were recently reported to possess direct cardio-protective effects in reducing atherogenesis. Furthermore, a phytohormone, abscisic acid (ABA), which is conserved between plants and humans, has significantly reduced macrophages and T cells accumulation at the aortic wall root, followed by reduced monocyte chemoattractant, in atherosclerosis mouse model. Thus, the main objectives of the study are to evaluate the (i) impact of ABA on cardioprotective ILC2 expansion, migration and cytokine production; (ii) impact of ABA stimulated ILC2 cells on vascular endothelial inflammasome.

Methods: ILC2 immunophenotyping was performed among CAD patients and normal controls by flow cytometry (FACS). Enrichment of ILC2 from human PBMCs were performed using the magnet cell separation technique, where ILC2s purity was confirmed by FACS. These enriched ILC2 will be cultured with ABA to evaluate (i) proliferation; (ii) cytokine production; (iii) migration potential using FACS, ELISA and transwell assay respectively. Furthermore, LANCL2 expression, ABA receptor, on ILC2 and HUVECs will be performed using fluorescent microscopy. NLRP3 gene expression representing inflammasome pathway was visualized by treating HUVECs with LPS. Quantification of NLRP3 gene, and IL-1 β in HUVECs with ABA and ILC2 will be performed using Real Time PCR and ELISA.

Results: The frequencies of blood ILC2 did not differ between CAD patients and NC. During establishment phase, the (i) ILC2 were enriched with 95,4% purity, (ii) LANCL2 expression was evident among PBMCs; (iii) NLRP3 gene could be visualized in LPS treated HUVECs.

Conclusion: The study will progress towards the goal to reduce the endothelial inflammasome with the coordinated action of ABA and ILC2.

4. Analysis of the role of long-non-codingRNA LINC00992 in breast cancer

S. Graf ¹, PD Dr. N. Naß^{1,2}.

¹Department of Pathology, Otto-von-Guericke University Magdeburg, Magdeburg, Germany.

²Department for Internal Medicine I, Dessau Medical Center, Dessau, Germany.

CONTACT

Sebastian Graf: sebastian.graf@st.ovgu.de

PD Dr. Norbert Naß: norbert.nass@klinikum-dessau.de

<https://www.ipa.ovgu.de/Forschung/Arbeitsgruppe+Naß.html>

Introduction

Tamoxifen-adapted MCF-7 breast cancer cells (TAM-R) are a model for investigating acquired tamoxifen resistance in estrogen receptor-positive breast cancer. In this in vitro system, the expression of long-non-coding RNA (lncRNA) LINC00992 is decreased. Tamoxifen resistance and associated gene expression changes may be influenced through altered expression of LINC00992. The expression of ubiquitin D (UBD), zinc finger protein 462 (ZNF462), and the membrane adhesion molecules CEACAM5 and -6 are increased, while single-mind homolog 1 (SIM1) and the G-protein coupled estrogen receptor (GPER1) are reduced.

Materials and Methods

Upregulation and downregulation of LINC00992 in MCF-7 and TAM-R was performed using plasmid vectors and siRNA. Gene expression was measured via qRT-PCR and NanoString nCounter. Online database analysis was performed using GEPIA2.

Results

Experimental overexpression and underexpression of LINC00992 revealed gene expression changes in MCF-7 and TAM-R. The expression of UBD and ZNF462 were decreased upon upregulation of LINC00992 in MCF-7, diametrically opposite to the expressional behaviors of TAM-R. SIM1 gene expression was decreased in MCF-7 after upregulation of LINC00992. The expression of CEACAM5 paradoxically increased after upregulation of LINC00992 in TAM-R and also resulted in a trend toward enhanced expression of CEACAM6. Downregulation of LINC00992 in MCF-7 revealed a clear trend towards decreased expression of GPER1, in analogy to TAM-R. Breast cancer showed increased expression of LINC00992. Higher expression of LINC00992 was associated with poor prognosis in mammary carcinomas.

Conclusion

Gene expression changes could be induced by LINC00992, making lncRNA at least partially involved in the establishment of tamoxifen resistance. In our opinion, LINC00992 may serve as a prognostic biomarker and may indicate development of tamoxifen resistance.

5. Normoxische HIF-1 α -Stabilisierung an der Gefäßbarriere im Kontext der Atherosklerose

M. Abdi Sarabi¹, S. Weinert¹, R. Braun-Dullaes¹

¹Klinik für Kardiologie und Angiologie, Universitätsklinikum Magdeburg

Hintergrund und Zielsetzungen:

Über die Stabilisierung des Hypoxie-induzierbaren Faktors (HIF) unter normoxischen Bedingungen ist nicht viel bekannt. Wir nehmen an, dass Mikromilieufaktoren (MF) eine normoxische HIF-1 α -Stabilisierung induzieren können und dadurch zum Verlust der endothelialen Barrierefunktion (EBF) sowie zur Entwicklung von Atherosklerose führen können. Um unsere Hypothese zu überprüfen, haben wir zwei Ziele definiert: (1) Systematische Analyse der Wirkung von MF auf die HIF-1 α -Stabilisierung unter normoxischen Bedingungen. (2) Funktionelle Charakterisierung der HIF-1 α stabilisierenden MF im Hinblick auf die EBF und die Modulation des Endothelzellsekretoms.

Methoden:

Um HIF1 α -stabilisierende MF anhand der live cell imaging Versuche entdecken zu können, generierten wir die HIF-1 α -mKate2 exprimierenden HEK293-Zellen als tiefroten Biosensor. Human coronary artery endothelial cells (HCAECs) wurden dann mit vorselektierten MF behandelt. Die normoxische HIF-1 α -Stabilisierung wurde im live cell imaging und mit Mikroskopie-unabhängigen Methoden bestätigt.

Ergebnisse:

Wir konnten nachweisen, dass MF, insbesondere pro-inflammatorische Zytokine und Wachstumsfaktoren wie z.B. TNF- α und IGF-1, eine signifikante normoxische HIF-1 α -Stabilisierung in HCAECs verursachen. Mechanistisch fanden wir heraus, dass die normoxische HIF-1 α -Stabilisierung durch MF unabhängig von Schritten ist, die zum Abbau dieses Transkriptionsfaktors führen, wie z.B. die Hydroxylierung. Wir konnten ebenfalls zeigen, dass die normoxische HIF-1 α -Stabilisierung durch den PI3K/Akt/mTOR-Signalweg sowie durch den kanonischen NF- κ B-Signalweg reguliert wird.

Schlussfolgerung:

Unsere Daten zeigen, dass MF HIF-1 α unter normoxischen Bedingungen stabilisieren. Nach der normoxischen HIF-1 α -Stabilisierung werden wir die funktionellen Aspekte wie z.B. die Barrierefunktion und das aus HCAECs stammende Sekretom anhand des FITC-Dextran-Tests und der Immunfluoreszenzfärbung sowie mit dem Bio-Plex-System untersuchen.

6. C9 als Biomarker zur Identifikation von periprothetischen Gelenksinfektionen

Ann-Kathrin Meinshausen MSc¹, Jacqueline Färber MD², Sebastian Illiger MD¹, Paolo Macor PhD³, Christoph H. Lohmann MD^{1,4}, Jessica Bertrand PhD^{1,4*}

¹Department of Orthopaedic Surgery, Otto-von-Guericke University Magdeburg, Germany

²Institute of Medical Microbiology, Infection Control and Prevention, Otto-von-Guericke University Magdeburg, Germany

³Department of Life Sciences, University of Trieste, Trieste, Italy

⁴Health Campus Immunology, Infectiology and Inflammation, Otto-von-Guericke University Magdeburg, Magdeburg, Germany.

Einleitung: Eine periprothetische Gelenkinfektion (PGI) ist eine schwerwiegende Komplikation nach der Implantation einer Endoprothese. Allerdings werden bis zu 7% der Fälle als kulturnegative PGI diagnostiziert, dadurch kommt es zum aseptischen Austausch ohne Folge Behandlung der Infektion. Um eine PGI zu identifizieren, werden verschiedene mikrobiologischen und histologischen Identifikationen durchgeführt. Auch Biomarker werden zur Erkennung von PGIs eingesetzt, ein Gold-Standard gibt es bisher nicht. Es konnte bereits gezeigt werden, dass C9 in periprothetischem Gewebe mittels Immunhistologie als potentieller Biomarker etablieren lassen könnte. Daher war das Ziel dieser Arbeit, die Validierung von C9 als Biomarker.

Methode: In dieser Studie wurden 98 Patienten, die sich einer septischen (58/98) oder aseptischen (40/98) Revisionschirurgie unterzogen analysiert. Die Serumparameter, einschließlich des C-reaktiven Proteins und der Anzahl der weißen Blutkörperchen, wurden ausgewertet, und das periprothetische Gewebe nach C9 detektiert. Die Menge der C9-Gewebefärbung wurde in septischem gegenüber aseptischem Gewebe bewertet, anschließend wurde die Menge der C9-Färbung mit verschiedenen Erregern korreliert. Um Kreuzreaktionen zwischen Infektionen und anderen entzündlichen Gelenkerkrankungen auszuschließen, haben wir Gewebeproben von Patienten mit rheumatoider Arthritis, Abrieb und Chondrokalzinose einbezogen.

Ergebnisse: Wir fanden einen signifikanten Anstieg der C9-Färbung im periprothetischen Gewebe der PGI. Um die Verwendung von C9 als Biomarker für PJI zu testen, führten wir eine ROC-Analyse durch. Bei einer Sensitivität von 89 % und einer Spezifität von 75 % betrug die AUC 0,84, was darauf hindeutet, dass C9 ein sehr guter Biomarker für den Nachweis einer PGI ist. Wir konnten keine Unterschiede in der C9-Färbung in Abhängigkeit vom Erreger der PGI feststellen. Wir beobachteten eine Kreuzreaktivität mit entzündlichen Gelenkerkrankungen wie Abrieb, während wir keine Kreuzreaktivität mit Chondrokalzinose und rheumatischer Arthritis feststellen konnten.

Schlussfolgerung: Unsere Studie identifiziert C9 als potenziellen Gewebe-Biomarker für die Identifizierung von PJI mittels immunhistologischer Färbung von Gewebebiopsien. Die Verwendung der C9-Färbung könnte dazu beitragen, die Zahl der falsch negativen PGI-Diagnosen zu verringern.

7. Mucosal associated invariant T (MAIT) cells from *Clostridioides difficile* infected patients exhibit a distinct proinflammatory phenotype and enhanced cytotoxic activity

Steffen Brauns¹, Isabel Marquardt², Cosima Thon³, Jacqueline Färber¹, Lars Philipsen⁴, Alexander Link³, Dunja Bruder^{1,2}

¹Institute of Medical Microbiology and Hospital Hygiene, Otto-von-Guericke University, Magdeburg, Germany

²Helmholtz Centre for Infection Research, Braunschweig, Germany

³Department of Gastroenterology, Hepatology and Infectious Diseases, Otto-von-Guericke University Hospital, Magdeburg, Germany

⁴Institute of Molecular and Clinical Immunology, Otto-von-Guericke University, Magdeburg, Germany

Mucosal associated invariant T (MAIT) cells are unconventional T cells which recognize bacterial metabolites presented by the non-classical MHC class I molecule MR1. MAIT cells are mainly found in the mucosa and blood where they constitute up to 10 % of the CD3⁺ T cell population. There is robust experimental evidence that MAIT cells participate in various inflammatory processes. However, their participation in the response toward the intestinal pathogen *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) that is responsible for almost half of the nosocomial infections of the gastrointestinal tract with high morbidity and mortality remains largely elusive to date.

We performed a comprehensive immunophenotyping of MAIT cells derived from patients with *C. difficile* infection (CDI) and compared it to that of healthy individuals and patients with inflammatory bowel diseases (IBD). Blood samples and intestinal tissue biopsies were analyzed by flow cytometry and by advanced immunohistochemistry using multi epitope ligand cartography (MELC), respectively. Furthermore, we determined the specific sequence type of the disease-causing *C. difficile* isolated from stool samples by multilocus sequence typing (MLST).

Our study revealed that blood MAIT cells from CDI patients exhibit a proinflammatory phenotype as indicated by elevated frequencies of IL-17a⁺ cells and an increased readiness to synthesize the proinflammatory cytokine IFN- γ following in vitro re-stimulation. Moreover, the cytotoxic activity of the cells, as measured by CD107a, granzyme B and perforin expression, was strongly increased in CDI. MELC analysis of intestinal tissue revealed that MAIT cells of CDI patients show an activated phenotype as well as an increased production of granzyme B compared to healthy individuals and IBD patients. Together with previously published in vitro data from our group (Bernal et al. 2018), our findings indicate that MAIT cells are functionally involved in the early immune response against *C. difficile* with potential implications for disease pathogenesis.

8. Resolved Influenza A Virus Infections has extended effects on lung homeostasis and attenuates allergic airway inflammation in a mouse model

Qingyu Wu ¹, Ilka Jorde ¹, Jens Schreiber ¹, Sabine Stegemann-Koniszewski ¹

¹Otto-von-Guericke Universität Magdeburg, Universitätsklinik für Pneumologie

Background: Allergic airway inflammation (AAI) involves T helper cell type 2 (Th2) and pro-inflammatory responses to aeroallergens remain elusive. Infections with influenza A virus (IAV) have strong impact on the local microenvironment, thereby also affecting inflammatory mechanisms in chronic respiratory diseases such as allergic asthma.

Objective: We are addressing how a preceding and resolved IAV infection effects the allergic asthma in a mouse model.

Methods: we use mouse (C57Bl/6) models of IAV infection and allergic asthma. Mice are first intranasally infected with IAV PR8(H1N1) and 14 days later sensitized intraperitoneally against the model antigen ovalbumin (OVA). Following sensitization, mice are challenged intranasally with OVA to induce allergic airway inflammation. Histological changes, immune cell recruitment, cytokine responses and OVA-specific IgE levels are analyzed and compared.

Results: OVA-sensitized and challenged mice exhibited allergic airway inflammation characterized by cell-recruitment to the airways and lungs, eosinophilic inflammation and the production of inflammatory as well as Th2-cytokines. Eosinophilic inflammation was clearly evident in histology. Significant levels of OVA-specific IgE antibodies as well as bronchial hyperreactivity were detectable. Sublethal IAV infection is characterized by a transient loss in body weight and mice have typically cleared the virus and recovered by day 14 post IAV infection. Strikingly, mice analyzed more than five weeks after infection (day 39) histologically still showed ongoing inflammation. Analysis of mice that were sensitized and challenged with OVA from day 14 post IAV infection showed significant changes in allergic airway inflammation, suggesting a long-lasting potential of IAV infections to alter local allergic inflammatory processes.

Conclusion: the interactions between viral pathogens and mechanisms of allergic asthma are manifold and in many aspects still not understood. We show that apart from exacerbation during acute infection, IAV infection has long lasting impact on the respiratory immune system affecting chronic respiratory diseases such as allergic asthma.

9. Aufbau eines 3D-Lungentumormodells und Analyse der Umprogrammierung von Fibroblasten in CAFs

Bever, C, Wiese-Rischke, C; Walles, T

Experimentelle Thoraxchirurgie, Magdeburg

Einleitung: Wichtiger zellulärer Bestandteil der Mikroumgebung von Tumoren sind Krebs-assoziierte Fibroblasten (CAF). Deren Entstehung durch Aktivierung und Umprogrammierung von normalen Fibroblasten durch Tumorzellen ist bisher wenig untersucht. Daher haben wir in dieser Arbeit 3D Lungentumormodelle bestehend aus der Tumorzelllinie HCC827 und normalen Fibroblasten entwickelt und die Fibroblasten im Zeitverlauf charakterisiert.

Methoden: Die 3D-Kultivierung erfolgte auf einer biologischen Kollagenmatrix. Da Tumorzellen in den 3D Modellen ebenfalls einen mesenchymalen Phänotyp zeigten, wurden außerdem 3D Modelle von Fibroblasten-Monokulturen mit HCC827-konditioniertem Medium (kond. Med.) verwendet. Zur Konditionierung wurde TGF β , ein potenter in vitro Induktor der Epithelial Mesenchymalen Transition, benutzt. Die 3D-Modelle wurden nach 7, 10 bzw. 14 Tagen mittels Histologie, Immunfluoreszenz und Zymographie analysiert.

Ergebnisse: In Gegenwart von TGF β zeigten die 3D-Co-Kulturmodelle verstärktes Tumorstadium. Die CAF Marker, α -SMA und MCT4, wurden vermehrt in Fibroblasten gefunden, während Caveolin erwartungsgemäß verringert war. Immunfärbungen gegen CollIV, ein Hauptbestandteil der Basalmembran, deuteten darauf hin, dass an Tag 14 keine Basalmembran mehr vorhanden war. Im Verlauf der Kultivierung wurde eine erhöhte Matrix-Metalloproteasen (MMP)2 Aktivität beobachtet. Das Proenzym der MMP9 war außerdem in Gegenwart von TGF β verstärkt nachweisbar. 3D Fibroblasten-Monokulturmodelle, die mit TGF β kond. Med. kultiviert wurden, zeigten ebenfalls eine Aktivierung von α -SMA und MCT4 sowie eine deutliche Abnahme von Caveolin. In Kontrollmodellen mit DMEM sowie Modellen mit kond. Med. ohne TGF β wurde kein Anstieg von α -SMA und MCT4 beobachtet. Caveolin war gleichmäßig konstant vorhanden.

Diskussion: Definitionsgemäß gilt ein Tumor als invasiv, sobald dieser die Basalmembran durchbrochen hat. Der Abbau von CollIV und die erhöhte MMP2 bzw. proMMP9 Aktivität in unseren 3D Tumormodellen deuten auf die Entwicklung eines invasiven Tumors hin. Die Ergebnisse verdeutlichen die Entstehung von CAFs in unseren 3D-Tumormodellen und deuten darauf hin, dass auch lösliche, von HCC827 freigesetzte Faktoren, nach Behandlung mit TGF β ruhende Fibroblasten zu CAFs aktivieren können.

10. Sex-dependent role of orexin in mouse behavioral endophenotypes of neuropsychiatric disorders

Nadine Faesel^{1,2}, Malgorzata H. Kolodziejczyk¹, Anna Burckhardt^{1,3}, Michael Koch², Markus Fendt^{1,4}

¹Institute for Pharmacology and Toxicology, Medical Faculty, Otto-von-Guericke University Magdeburg

²Department of Neuropharmacology, Brain Research Institute, University of Bremen

³School of Medicine, Otto-von-Guericke University Magdeburg

⁴Center for Behavioral Brain Sciences, Otto-von-Guericke University Magdeburg

The orexin neuropeptide system plays a crucial role in regulating sleep and feeding, but it is also important for various other processes and has been implicated in neuropsychiatric disorders. The present research focuses on orexin's role in mouse behavioral endophenotypes of neuropsychiatric disorders, including anxiety, sociability, and sensorimotor gating.

Experiment (1): Orexin-deficient mice were tested for anxiety behavior in the elevated plus maze after intracerebroventricular injection of the panicogenic substance CCK-4. In wild-type mice, CCK-4 increased anxiety and plasma corticosterone levels. These effects were absent in female orexin-deficient mice, whereas male orexin-deficient mice still responded to CCK-4.

Experiment (2): Orexin-deficient mice were tested for their sociability and social novelty behavior. Female orexin-deficient mice displayed reduced sociability and decreased preference for social novelty compared to their wild-type littermates, while those effects of orexin deficiency were absent in males.

Experiment (3): We are currently investigating the effects of chemogenetic stimulation of the orexin system on pharmacologically induced sensorimotor gating deficits, measured by prepulse inhibition (PPI) of the startle response. For that, orexin-cre mice were injected with a viral DREADD (Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs) construct into the lateral hypothalamus to ensure specific expression in orexin neurons. Before testing for PPI, the mice received injections of MK-801, a NMDA-receptor antagonist known to induce PPI deficits. To investigate whether orexin system activation may modulate these deficits, the mice were additionally treated with clozapine-N-oxide (ligand of DREADDs). Preliminary data indicate that MK-801 induced a PPI deficit, and this effect was sex-dependently affected by activation of the orexin system: While the PPI deficit was unchanged in males, it was worsened in females. Taken together, our data indicate an important and sex-dependent role of orexin in mouse behavioral endophenotypes of neuropsychiatric disorders, thus emphasizing the orexin system as a potential target for future pharmacological treatments.

11. Examination regarding the degradation of the Hypoxia-inducible factor alpha (HIF-1 α) via microscopic procedure

Lucas Montanus¹, Soenke Weinert¹, Ruediger C. Braun-Dullaeus¹

¹Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg, Universitätsklinik für Kardiologie und Angiologie, Magdeburg, Germany

HIF-1 α is an oxygen-dependent transcriptional factor and crucial mediator of O₂ homeostasis. It plays an essential role in the pathophysiology of cancer, cardiovascular disease, and chronic lung disease. Its *in vivo* modulation could be a gateway to a novel therapeutic approach to these diseases. HIF-1 is a basic helix-loop-helix heterodimer. While its β -subunit is not oxygen-dependently regulated, the also ubiquitous expressed α -subunit is regulated in an oxygen dependent manner. The oxygen dependent de-gradation is regulated via post translational modifications on distinct amino acids residues. In particular, the hydroxylation of Pro-402 and Pro-564 via PHD2 and the phosphorylation state of Ser-567 and Ser-657 are known regulators of the degradation. These hydroxylations enable the binding of the von Hippel-Lindau tumor suppressor, triggering subsequent HIF-1 α ubiquitination and degradation. The ubiquitin mediated de-gradation of HIF-1 α is assumed to be located in the proteasome. However, reliable data are missing. The main goal of this study is to comprehensively examine degradation of HIF-1 α . To obtain better insights of the role of above mentioned residues and to follow stabilization and degradation of HIF-1 α in life cells, Hif-1 α was fused to the fluorescent protein Eos, which can be irreversibly switched from a green into a red fluorescent protein via UV-light. Beside the wild-type Hif-1 α -Eos fusion, various Hif-1 α -mutants (P402A, P564G, P402A/P564G, P402A/ P564G/ P567A/ P657A) were created and subcloned into a knock-in donor vector. These will enable us to create, via a commercial transcription activator-like effector nuclease (TALEN) AAV-safe harbor, knock-in cells to measure the half-life time of HIF-1 α in smooth muscle and endothelial cells and follow the protein degradation.

12. TLR1 SNP rs4833095 Genotyp ist nicht mit der Inflammation bei einer H. pylori-negativen Gastritis assoziiert

Mareike Karle¹, Cosima Thon¹, Dörthe Jechorek², Peter Malfertheiner^{1,3}, Alexander Link¹

¹Klinik für Gastroenterologie, Hepatologie und Infektiologie, Otto-von-Guericke Universität Magdeburg, Leipziger Str. 44, 39120 Magdeburg, Deutschland

²Institut für Pathologie, Otto-von-Guericke Universität Magdeburg, Leipziger Str. 44, 39120 Magdeburg, Deutschland

³Klinik für Innere Medizin II, Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München, Marchioninistraße 15, 81377 München, Deutschland.

Einleitung:

H. pylori-Infektion führt zu einer chronischen aktiven Gastritis, wobei die Intensität interindividuell variiert. Es wurde beschrieben, dass bestimmte genetische Faktoren wie beispielsweise Single Nukleotid Polymorphismen (SNP) bei Toll-like-Rezeptor 1 (TLR1), einen Effekt auf das Ausmaß einer Gastritis haben könnten. Inwieweit diese Faktoren einen Einfluss auf die mukosale Inflammation bei H. pylori negativen Gastritiden haben, ist nicht systematisch untersucht worden.

Ziel:

Evaluation der Assoziation zwischen dem TLR1-SNP rs4833095 Genotyp und spezifischen Gastritis-Typen bzw. Magenpathologien.

Methoden:

581 Patienten wurden prospektiv einer Endoskopie des oberen Gastrointestinaltrakts unterzogen. Entnommene Magenbiopsien wurden histologisch, mikrobiologisch und serologisch auf H. pylori untersucht. Basierend auf den histopathologischen Befunden wurden die Patienten anhand des Sydney-Systems klassifiziert: Patienten mit normaler Mukosa (N), chronisch nicht-atrophischer Gastritis (CNAG), atrophischer Gastritis (AG) mit/ohne intestinale Metaplasie (IM) sowie Magenkarzinom. DNA wurde aus den Magenbiopsien und Blutproben isoliert und mittels TaqMan Assay der TLR1-SNP bestimmt.

Ergebnisse:

Von der Gesamtkohorte hatten 343 (59%) den TT-Genotyp, 218 (37,6%) TC und nur 20 (3,4%) CC. Bei 198 (34,1%) Patienten war die H. pylori-Serologie positiv und bei 383 (65,9%) negativ. Der SNP-Genotyp war bei H. pylori-negativen Patienten mit 236 (61,6%) TT-Genotyp, 133 (34,7%) TC und 14 (3,7%) CC vergleichbar wie bei H. pylori positiven. Um in der weiteren Analyse eine Minderheitenverzerrung zu minimieren, wurden TC und CC zusammengefasst. Patienten mit TT-Genotyp zeigten im Vergleich zum TC/CC-Genotyp keine signifikanten Unterschiede bei dem Ausmaß der Aktivität, Chronizität, Atrophie und IM. Zwischen den N, CNAG und AG/IM-Gruppen gab es keine Unterschiede in der Prävalenz. Im Vergleich hatte die Magenkarzinom Gruppe signifikant häufiger den TT-Genotyp als die restliche Kohorte (p=0,0068).

Schlussfolgerung:

In unserer Kohorte war der TLR1 SNP TT-Genotyp am häufigsten, gefolgt von TC und am seltensten CC. Bis auf bei Magenkarzinomen konnten wir keine signifikante

Assoziation zwischen TLR1 SNP-Genotyp und Ausmaß der Gastritis bei H. pylori negativen Patienten feststellen.

13. Impact of HCA2/Gpr109a receptor signaling on allergic inflammation in the skin

Polkownik S., Wulff K., Kruse B., Buzzai A., Bonifatius S., Tüting T., Gaffal E.

Lab. of Experimental Dermatology, Dept. of Dermatology, University of Magdeburg

The hydroxycarboic acid receptor HCA2/Gpr109a is expressed in adipocytes, immune cells including neutrophils, macrophages, and epidermal Langerhans cells, intestinal epithelial cells, keratinocytes, and microglia. Endogenous agonists of this G-protein coupled receptor are butyrate and 3-hydroxy-butyrate. HCA2 is also a target for nicotinic acid. Nutritional or pharmacological activation of HCA2 inhibits the production of insulin, regulates blood pressure and reduces lipolysis. Furthermore, it attenuates inflammation in atherosclerosis and inflammatory bowel disease. In a mouse model of psoriasis, topical application of sodium butyrate attenuated the inflammatory immune response by inducing Treg and IL-10. The mechanisms of the anti-inflammatory effects of HCA2 receptor signaling for the regulation of cutaneous inflammation are still not fully understood.

To evaluate the role of HCA2 signaling in the regulation of allergic immune responses in the skin, we used the experimental mouse model of contact hypersensitivity. Mice were sensitized with the obligate contact sensitizer 2,4-dinitro-1-fluorobenzene (DNFB). Five days later contact allergy was induced by application of DNFB on one ear. Ear swelling was measured and immunological analyses (histology, FACS) and RT-PCR were performed on inflamed skin. We found that Hcar2^{-/-} mice displayed a strong immune response as shown by significantly increased ear swelling in comparison to wild type animals. The number of infiltrating CD45⁺ immune cells, Ly6G/Ly6C⁺ neutrophils and CD3⁺ lymphocytes was also significantly enhanced in the inflamed ear tissue of Hcar2^{-/-} mice. RT-PCR analyses revealed increased levels of TNF α , IL-4 and CCL8 in Hcar2 knockout in comparison to wild type animals. Based on our observations we hypothesize that the HCA2 receptor plays an important role in limiting excessive cellular immune activation in the skin and in promoting a return to homeostatic conditions. Further experiments will elucidate on which cell subtype HCA2 receptor signaling is of major importance for the attenuation of cutaneous immune responses.

14. The capacity of mast cells to translate skin inflammation into systemic effects

Marten Zillmer

Institute of Molecular and Clinical Immunology OvGU Magdeburg

Funded by: RTG 2408 of the German Research Foundation

Supervisor: Prof. Dr. Anne Dudeck

Mast cells (MCs) are best known for their key role in allergic reactions, but they also play an important part in innate and adaptive immune responses. The underlying pathomechanisms are still poorly understood. Recently, our group could show that there are perivascular murine skin MCs that can pass the vascular barrier and form granule-rich intraluminal sheets. Upon an inflammatory insult they degranulate directionally into blood vessels and release a plethora of preformed mediators like histamine, TNF, IL-6 and IL1- β .

We questioned whether the capacity of MCs to degranulate into the blood stream may translate a local skin inflammation into systemic effects. To this end, we used contact hypersensitivity (CHS) as a mouse model for allergic contact dermatitis, in which a single epicutaneous application of the hapten DNFB in the ear and back skin induces immediate MC degranulation.

We observed a significant reduction in all spleen cell subpopulations and bone marrow neutrophils 24h after DNFB treatment. Importantly, this effect targets particularly the monocytic lineage since the fraction of splenic inflammatory (Ly6Chigh) monocytes and monocyte-derived DCs, and of blood circulating inflammatory monocytes and Ly6C+ DCs were reduced, in comparison to control mice. In addition, we found significantly increased serum levels of the positive acute-phase proteins AGP, C-reactive protein (CRP) and haptoglobin. Most intriguingly, the decrease of splenic (Ly6Clow) monocytes and Ly6C+ DCs, as well as elevated blood neutrophil numbers and CRP were reproduced by intradermal injection in ear skin only of Mastoparan, a specific MC activator. This indicates the crucial role of MCs in the induction of these systemic effects.

We conclude that the degranulation of MCs into the blood stream upon local skin inflammation causes a profound systemic reaction including an acute phase response and immune cell responses in spleen, bone marrow and blood.

15. DNA-binding protein A (DbpA) is actively secreted in a calcium dependent manner by rat mesangial and melanoma cells

Gregor Hoppstock, Peter R. Mertens

Clinic of Nephrology and Hypertension, Diabetes and Endocrinology, Otto-von-Guericke University Magdeburg, Leipziger Str. 44, 39120 Magdeburg, Germany

DbpA is a member of the cold shock protein family with known functions in cancerogenesis and organ fibrosis. DbpA messenger RNA is translated and spliced into isoforms DbpA_a and DbpA_b that differ by 69 amino acids in length. DbpA is

present in serum and urine samples from patients with glomerular diseases and secretion can be stimulated through TGF- β 1, PDGF-BB and LPS exposure in rat mesangial cells (rMC) as well as ionomycin exposure in melanoma cell lines.

To investigate the mechanism underlying DbpA secretion we stimulated rMCs with lipopolysaccharide (LPS) and different melanoma cell lines with ionomycin to perform a DbpA-ELISA, immunoblotting analysis, immunofluorescence microscopy and exosome isolation. To look for the extracellular effect of DbpA_a and DbpA_b on cells a scratch assay was examined.

Supernatants precipitated from LPS challenged mesangial cells showed a strong DbpA_a band 8h after stimulation. RMC incubated with LPS and Brefeldin A showed an inhibition of secretion, which led us to hypothesize that DbpA is secreted through a classical secretion pathway. Interestingly, melanoma cells didn't show a reduction in the amount of DbpA in the supernatant after ionomycin and Brefeldin A treatment. Immunofluorescence microscopy of rMC, transfected with GFP-tagged DbpA_a and DbpA_b showed vesicle formation 6h after LPS exposure. We hypothesized that DbpA is secreted in exosomes, but exosome isolation revealed that DbpA occurs as a free protein in the extracellular space. Both, DbpA_a and DbpA_b stimulate wound closure in vitro, but together they act as antagonists and slow down cell migration.

Thus, we identify DbpA secretion through a classical pathway after LPS exposure. Intracellular vesicle formation occurs while DbpA is released through rMC. In addition DbpA is secreted in a calcium dependent manner in melanoma cells and extracellular DbpA impairs cell migration.

16. Age-related differences in problem-solving and learning by insight

Larissa Fischer ¹, Justus Krause ², Joram Soch ^{3,4}, Anni Richter ¹, Björn H. Schott ^{1,3,5}, Jasmin M. Kizilirmak ^{2,3}

¹Leibniz Institute for Neurobiology, Magdeburg, Germany

²Institute of Psychology, University of Hildesheim, Hildesheim, Germany

³German Center for Neurodegenerative Diseases, Göttingen, Germany

⁴Bernstein Center for Computational Neuroscience, Berlin, Germany

⁵Department of Psychiatry and Psychotherapy, University Medical Center Göttingen, Göttingen, Germany

Problem-solving and episodic memory processes are important for daily life, but depend on complex cognitive functions that decline with age. Problem solving by insight represents a special associative process of problem solving, in which the emotional component of the Aha! experience is of great importance. This Aha! experience is characterized by a positive feeling upon the sudden comprehension of the solution. Regarding long-term memory formation, problem solving by insight has been linked to a network independent of the hippocampus. Because this structure shows structural changes early on in older adults, problem solving by insight may represent a cognitive resource for learning at older age.

Using the Compound Remote Associate Task (CRAT), this study investigated differences between young (19 - 28 years) and older subjects (60 - 79 years) in problem solving and learning by insight. On day one, during an incidental learning task, the 61 participants judged the plausibility of presented (pseudo-)solutions for valid and nonsense CRA items. The day after, direct memory was tested by a retrieval task and indirect memory was assessed by solution rates and reaction times.

With respect to the relative frequency of solving new word puzzles, both age groups showed equal performance. This suggests an associative problem-solving process in which older people are not at a disadvantage due to aging processes. Older participants benefited more from problem solving by insight than without insight regarding later recognition memory of the items. Therefore, problem solving by insight might represent a way to support memory performance in old age.

Young participants more often attempted to use cognitive solution strategies, while older participants were more likely to use associative approaches. Associative problem solving led to higher solution rates than cognitive strategies in young adults in previous studies and may represent another potential advantage for cognitive performance in older adults.

17. Einfluss von Strukturparametern auf Qualitätsindikatoren der Notaufnahme

Laura Schmid

Universitätsklinik für Unfallchirurgie, AG Versorgungsforschung

Hintergrund:

Die Etablierung von Evidenz-basierten Qualitätsindikatoren (QI) in Notaufnahmen stellt einen wichtigen Aspekt des Qualitätsmanagements dar. Ziel des Projektes ENQUIRE ist die Identifizierung Outcome-relevanter QI. Die Studienlage zeigt, dass die Ausprägung von QI durch Strukturen der Notaufnahmen und die Zusammensetzung der Patientenkohorte beeinflusst werden kann. Untersucht werden im Rahmen der Promotionsarbeit die QI „Left without being seen“ (LWBS = Patienten, welche die Notaufnahme ohne Arztkontakt verlassen), „Left before treatment completion“ (LBTC = Patienten, die die Behandlung abbrechen) und „Left against medical advice“ (LAMA = Patienten, die gegen ärztlichen Rat gehen).

Methodik:

Eingeschlossen wurden alle volljährigen Patienten, die in einer der 11 ausgewählten von 15 am Projekt ENQUIRE teilnehmenden Kliniken behandelt wurden. Es werden nur Patienten ausgewertet, deren Verbleib nach der Notaufnahmebehandlung dokumentiert ist. Untersucht wird der Einfluss von notaufnahmebezogenen Strukturen (z.B. Notfallversorgungsstufe, Anzahl an Behandlungsplätzen), durchschnittlichen Prozesszeiten (z.B. Wartezeit) sowie patientenbezogenen Parametern (z.B. Alter, Zuweisung) auf die QI-Ausprägung.

Ergebnisse:

293.308 Behandlungsfälle stehen zur Auswertung zur Verfügung. Die Anzahl von LWBS-, LBTC- und LAMA-Patienten lag bei 3.087 (1,05%), 2.431 (0,83%) und 5.343 (1,82%). Im Vergleich der Kliniken divergierten die dokumentierten Häufigkeiten von LWBS, LBTC und LAMA stark, was nicht auf rein statistische Effekte zurückzuführen ist. Während die Geschlechterverteilung in einer ersten Analyse vergleichbar mit der Gesamtkohorte war, waren LWBS, LBTC und LAMA-Patienten jünger als die Gesamtkohorte (43,5, 43,4 und 49,1 Jahre vs. 55,7 Jahre). Der Anteil der Patienten,

die ohne Zuweisung in die Notaufnahme kamen, lag mit 70,3% (LWBS) und 58,3% (LBTC) höher als in der Gesamtkohorte mit 39,9%.

Aussicht:

Die im Mittel beobachteten Häufigkeiten für LWBS, LWTC und LAMA liegen in einer vergleichbaren Größenordnung wie in internationalen Publikationen berichtet. Die Differenzen zwischen den Kliniken sind wahrscheinlich nicht zufallsbedingt. Hierfür können die genannten Strukturen, Prozesse und Abweichungen der Patientenkohorte ursächlich sein. Dies im Detail zu analysieren ist das Ziel der Promotionsarbeit.

18. Einfluss von antibakteriellen Implantatbeschichtungen auf die Viabilität von grampositiven und gramnegativen Bakterien und die in vitro Mineralisierung

M Wulfhorst, J Döring, M Herbst, H Büsselmaier, AK Meinshausen, CH Lohmann, J Bertrand

Experimentelle Orthopädie, Universitätsklinik Magdeburg

Die Implantation von Endoprothesen gehört zu den Routine-Operationen in der Orthopädie und wird mit steigendem Durchschnittsalter der Bevölkerung immer wichtiger. Endoprothesen können aus Keramik, UHMWPE, Metallen (z.B. Titan) oder Metalllegierungen (z.B. CoCr) bestehen. Die Oberflächen sollten möglichst biokompatibel sein und im Idealfall antibakterielle Eigenschaften aufweisen. Verschiedene antibakterielle Implantatmaterialien wurden bereits in der Literatur vorgeschlagen, werden jedoch bisher nur vereinzelt am Patienten eingesetzt. Es kommt daher immer wieder zu periprothetischen Gewebe-Infektionen (PGI) und somit zu notwendigen Revisionsoperationen. Das Ziel der Studie war es, neue Prothesenmaterialien zu finden, die sowohl eine bakterielle Infektion vermindern als auch eine optimale Biokompatibilität aufweisen.

Für die Studie wurden 8 verschiedene potenziell antibakterielle Implantatbeschichtungen mit unbehandeltem CoCr verglichen. Auf den Oberflächen wurden *E. coli* und *S. capitis* kultiviert, um die antibakteriellen Eigenschaften auf gramnegative und grampositive Bakterien zu untersuchen. Als Maß für das Bakterienwachstum wurde die Optische Dichte (OD) gemessen und mittels CFU (colony forming units) die Viabilität bestimmt. Murine Knochenmark-abgeleitete Makrophagen (eng. bone marrow derived macrophages / BMMs) wurden auf den Oberflächen kultiviert und zu Osteoblasten differenziert, um mittels eines Alizarin Rot-Assays die Mineralisierung zu quantifizieren.

Alle getesteten Materialien zeigten gegenüber unbehandeltem CoCr ein verringertes Bakterienwachstum und eine verringerte Viabilität der Bakterien. Ein signifikanter Unterschied zeigte sich bei den mit Gentamycin und Gentamycin + kationischem Polymer beschichteten Proben im Vergleich zum unbeschichteten Material. Im Vergleich mit der Kontrolle konnte eine Zunahme der Osteoblasten-vermittelten Mineralisierung bei allen getesteten Oberflächen beobachtet werden. Eine statistisch signifikante Erhöhung war jedoch nur bei der Gentamycin Oberfläche zu verzeichnen. Die Daten zeigen, dass die Antibiotikabeschichtungen im Vergleich sowohl die wirksamsten antibakteriellen Eigenschaften als auch die höchste Biokompatibilität hinsichtlich einer guten Osseointegration besitzen. Dadurch konnte gezeigt werden,

dass die Antibiotikabeschichtung von Prothesen das Risiko einer PGI mit gramnegativen und -positiven Bakterien senken könnte und somit einen Einsatz auf osseointegrativen Implantatoberflächen denkbar wäre.

19. Evaluation des Rupturrisikos von multiplen intrakraniellen Aneurysmen

Vanessa Magdalena Swiatek

Universitätsklinik für Neurochirurgie, Medizinische Fakultät der Otto-von-Guericke Universität Magdeburg, Direktor: Prof. Dr. med. I. E. Sandalcioglu

Einleitung: Zahlreiche Ansätze für die Ermittlung des Rupturrisikos von intrakraniellen Aneurysmen wurden in den letzten Jahren eingeführt. Die hohe Anzahl der dabei etablierten potenziellen prädiktiven Faktoren ist jedoch für die praktische Anwendung in der Klinik kaum geeignet, weshalb die neuen Ansätze häufig zugunsten des praktischeren PHASES Scores verworfen werden. Die Anwendung des etablierten PHASES Scores könnte jedoch, insbesondere in der Subgruppe von Patienten mit multiplen intrakraniellen Aneurysmen (MIAs), zu einer starken Unterschätzung des individuellen Rupturrisikos führen, da nur das Aneurysma mit dem größten Durchmesser in der Risikobewertung berücksichtigt wird.

Methoden: In dieser Studie untersuchten wir 38 Patienten mit insgesamt 87 MIAs im Hinblick auf ihre morphologischen und hämodynamischen Charakteristika. Zur Bestimmung der am besten geeigneten Parameter hinsichtlich ihrer Vorhersagekraft für die Ruptur eines Aneurysmas führten wir drei Phasen der statistischen Auswertung durch. Die statistische Analyse zielte darauf ab, die Parameter zu identifizieren, die sich signifikant zwischen rupturierten und nicht rupturierten Aneurysmen unterscheiden, die kleinstmöglichen Korrelationen untereinander aufweisen und einen hohen Einfluss auf die Vorhersage der Aneurysmaruptur haben.

Ergebnisse: Signifikante Unterschiede zwischen rupturierten und nicht rupturierten Aneurysmen wurden bei 16 von 49 Parametern festgestellt. Die geringste Korrelation wurde für „Gamma“, „Aspect Ratio“ (AR1), „aneurysm maximal relative residence time“ (Aneurysm_RRT_max) und „aneurysm mean relative residence time“ festgestellt. Die datengesteuerte Parameterauswahl ergab eine signifikante Korrelation von nur zwei Parametern (AR1 und Aneurysmam_RRT_max) mit dem Rupturstatus (Area under the curve = 0,75).

Konklusion: Eine große Anzahl etablierter morphologischer und hämodynamischer Parameter scheint keinen oder nur einen geringen Einfluss auf die Vorhersage der Aneurysmaruptur bei Patienten mit MIA zu haben. Für eine bestmögliche Bewertung des Rupturrisikos von Patienten mit MIAs müssen in unserer Kohorte nur der morphologische Parameter „AR1“ und der hämodynamische Parameter „Aneurysm_RRT_max“ in das Vorhersagemodell aufgenommen werden.

20. Antibacterial modification of the marginal zone by silver-integrated EDM processing of TiAl6V4 implant material

Hilmar Büsselmann^{1†}, Ann-Kathrin Meinshausen^{1†}, Viet Duc Bui², Joachim Döring¹, Vadym Voropai¹, Andreas J. Mueller³, Andreas Schubert², Jessica Bertrand^{1,4*}

¹Department of Orthopaedic Surgery, Otto-von-Guericke University Magdeburg, Germany

²Professorship of Micromanufacturing Technology, University of Technology Chemnitz, Germany

³Institute of Molecular and Clinical Immunology, Otto-von-Guericke University Magdeburg, Germany

⁴Health Campus Immunology, Infectiology and Inflammation, Otto-von-Guericke University Magdeburg, Magdeburg, Germany.

In previous studies, it has been shown that silver modification of titanium (Ti-6Al-4V) surfaces by PMEDM (powder mixed electrical discharge machining) has an antibacterial effect on *Staphylococcus aureus* adhesion. In this study, the surface properties of the silver modified Ti-6Al-4V surfaces modulated by changing various parameters in the PMEDM process were analysed. The aim was to gain further insights into the antibacterial properties and osseointegrative processes and the biomechanical characteristics of the modified surface. We characterised the different surfaces in more detail by examining the thickness, roughness, hardness and silver content of the modified layer. Here, significant differences in surface roughness and hardness were noticeable in relation to the different layer thickness. Furthermore, this study includes the testing of bacterial attachment and proliferation of *S. aureus* on the modified surfaces. I have shown that the attachment of *S. aureus* on all tested PMEDM modified surfaces was significantly lower than on the corresponding control (Ti-6Al-4V), regardless of the modulated surface properties. Bacterial proliferation, however, was not affected by the silver modification. To test osseointegrative properties, human osteoblasts (SaOs-2) and murine osteoclasts differentiated from bone marrow macrophages (BMMs) were cultured on the different surfaces. The modified surfaces did not show any differences in the mineralisation capacity of the osteoblast cells compared to the controls, whereas osteoclast formation was only observed on the controls.

These results imply that silver surfaces modified using the PMEDM method have an antibacterial capacity, while at the same time good osseointegrative properties. These results indicate that PMEDM silver surfaces might be applied on future endoprosthetic implant materials to reduce the number of periprosthetic joint infections.

21. Optimierung der Organperfusion in einem ex-vivo Lungenperfusionsmodell

Isabell Knoblich, Helena Linge, Cornelia Wiese-Rischke, Shweatha Padmanabhan, Dr. Vojtěch Kulvait, Georg Rose, Thorsten Walles

Klinik für Herz- und Thoraxchirurgie, Experimentelle Thoraxchirurgie

Hintergrund:

Ex-vivo Lungenperfusions-Systeme (EVLP) werden für transnationale Forschungsansätze in der Lungenmedizin benötigt. Kommerziell erwerbbar Systeme aus der Transplantationsmedizin sind für viele experimentelle Ansätze nicht einsetzbar. Deshalb entwickeln wir ein eigenständiges, modular erweiterbares EVLP-System für die Forschung.

Material und Methode:

Dieses EVLP-System wurde für Schweinelungen entwickelt. Die Organe wurden Versuchstieren explantiert (Hausschwein, ca. 40 kg) und mit Heparin sowie einer Perfadex-ähnlichen Lösung gespült. Der linke Lungenflügel wurde in einer isolierten Organkammer intubiert, Volumen-kontrolliert ventiliert und zunächst mit temperierter Perfadex-ähnlicher Lösung (P) perfundiert. Es wurden drei Perfusionsraten verglichen: I) 5 ml/min, II) 20 ml/min, III) 500 ml/min. Zur Optimierung der Organperfusion wurden die Lungen mit Serum (S) bei 5ml/min perfundiert. Die Perfusionsregime wurden anhand der Perfusionsdauer, makro- und mikroskopischer Gewebsveränderungen, Ödemgehalt, Ventilations- und biochemischen Parametern sowie radiomorphologisch beurteilt.

Ergebnisse:

Perfusionen mit P führten zu längsten Perfusionszeiten (144 ± 74 min vs. 98 ± 101 min vs. 54 ± 40 min), im Vergleich zur Perfusion mit NaCl-Lösung, bei der innerhalb von 2-10 min ein ausgeprägtes Lungenödem entstand (Kontrolle). Die Röntgen-Bildgebung mittels Kontrastmittel bestätigte die Organperfusion einschließlich der peripheren Lungenabschnitte. Mit fortschreitender Perfusionszeit zeigte sich ein Anstieg der LDH-Aktivität. Perfusionen mit S verlängerte die Versuchszeit deutlich (400 ± 249 min) während die Glukosekonzentration bei konstanter Elektrolytkonzentrationen (K, Ca, Cl, Mg) abfiel. Der Grad der Ödembildung konnte mit der „wet-to-dry-ratio“ quantifiziert werden, welcher mit den Perfusionsergebnissen korrelierte, jedoch histomorphologisch nicht mit der Zerstörung der Gewebearchitektur einherging. Funktionell führte die Entwicklung eines Ödems zu einer Abnahme der Lungendehnbarkeit um das 3,5-fache.

Schlussfolgerung:

Das von uns entwickelte EVLP-System ermöglicht experimentelle Untersuchungen an Schweinelungen für bis zu 11h. Zahlreiche Methoden zur Charakterisierung der Organfunktion und -morphologie wurden etabliert. In weiteren Studien soll das Modell weiter optimiert werden.

22. The inositol-1,4,5-trisphosphate-3-kinase-A is a putative regulator of social interaction and motor function

Erik Wolniczak (Institute of Anatomy, Otto von Guericke University, Magdeburg), Sven Schumann (Institute for Microscopic Anatomy and Neurobiology, University Medical Center, Johannes Gutenberg-University, Mainz), Thomas Roskoden (Institute of Anatomy, Otto von Guericke University, Magdeburg), Anne Albrecht (Institute of Anatomy, Otto von Guericke University, Magdeburg), Sabine Windhorst (Department of Biochemistry and Signal Transduction, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg), Michael J Schmeisser (Institute for Microscopic Anatomy and Neurobiology, University Medical Center, Johannes Gutenberg-University, Mainz);

The Inositol-1,4,5-trisphosphate-3-kinase-A (Itpka) is a neuron-specific actin binding protein that regulates dendritic calcium transients and controls actin dynamics in dendritic spines. It is highly expressed in the murine cortex, hippocampus and cerebellum. Previous studies showed deficits in memory performances and differences in emotional behavior in mice lacking Itpka due to a total knock out of the gene.

In this study we analyzed the functional role of Itpka in social interaction and motor function by performing a set of behavioral experiments on an Itpka transgenic mouse model. Itpka deficient mice showed a difference in social interaction and in motor performance. Morphological investigations of the cerebellum are now on the way to unravel the underlying circuits of Itpka dependent motor function.

Taken together, Itpka is a novel putative player in the complex network of motor control both in health and disease.

23. Aufbau, Optimierung und Charakterisierung eines 3D-humanen Atemwegsmodells als Infektionsmodell

J. Maurer, T. Walles, C. Wiese-Rischke

Medizinische Fakultät, Klinik für Herz-und Thoraxchirurgie, AG Experimentelle Thoraxchirurgie

Einleitung: In Vitro aufgebaute humane Atemwegsmodelle aus primären Zellen können die menschliche Physiologie von Atemwegsepithelien besser nachbilden als Modelle mit Zelllinien, da Zelllinien Limitationen in der Zellfunktion aufweisen. Die Verwendung von primären Zellen ist anspruchsvoller, da die Zellen nicht beliebig oft passagiert werden können. In 3D Modellen verbessert eine Co-Kultivierung mit Fibroblasten auf einer biologischen Matrix und der apikale Kontakt zu Luft (Airlift) die Differenzierungsfähigkeit. Ziel des Forschungsprojektes ist es, ein differenziertes humanes Atemwegsmodell aufzubauen.

Methoden: Nach der Isolierung und Kultivierung von humanen primären Bronchialepithelzellen und Fibroblasten in zwei verschiedenen Medien (Expansionsmedium AECG und Expansions- und Differenzierungsmedium PneumaCult Ex+/ ALI) wurden diese in 2D mittels Immunfluoreszenz charakterisiert. Die Zellen wurden auf eine biologische Kollagen-haltige Trägermatrix übertragen und

über 21 Tage unter Air-Lift-Bedingungen kultiviert. Die Verwendung beider Medien wurde mittels Histologie und Immunfluoreszenz verglichen. Die TEER-Messung (transepithelial electrical resistance) ermöglicht Aussagen über die Barrierefunktion des Epithels.

Ergebnisse: Die 2D-Charakterisierung zeigte eine stärkere Entwicklung von Tight Junctions mit PneumaCult, und eine stärkere Expression von Cytokeratin 14 mit AECG. Das mit AECG kultivierte Atemwegsmodell zeichnete sich durch Proliferation mit wenig Differenzierung, aber dennoch mit ungerichteter Mukusproduktion aus. Das mit PneumaCult ALI kultivierte Modell entwickelte ein vollständig differenziertes Epithel. Durch die Polarisierung bildete sich im Verlauf ein dichter werdender Ziliensaum (Flimmerepithel), die Mukusproduktion (mit Muc5b und Muc5ac) stieg und es bildeten sich stärker Tight Junctions. Die Vitalität des Epithels ist durch eine intakte Basalzellschicht erhalten.

Diskussion: Die Ergebnisse zeigen, dass die Kultivierung mit PneumaCult ALI-Medium zu einer besseren Differenzierung des Bronchialepithels führt. Humane 3D Atemwegsmodelle haben ein breites Nutzspektrum und bieten eine hohe in-Vitro/in-Vivo-Korrelation. Das führt zu einer besseren Vorhersagbarkeit z.B. der Wirksamkeit von Medikamenten. Des Weiteren können komplexere Atemwegsmodelle mit Zelltypen wie Immunzellen aufgebaut werden, um der physiologischen Situation näher zu kommen. Sie dienen so als Grundlage für pharmakologische, infektiologische und inflammatorische Studien.

24. Vaskuläre Ursachen kognitiver Defizite bei Patienten mit zerebraler Mikroangiopathie

Katja Neumann¹, Merita Aruci², Cagla Aki¹, Matthias Günther³, Steffen Oeltze-Jafra^{2,4}, Emrah Düzel^{1,2*}, Stefanie Schreiber^{1,2**}

¹Deutsches Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen e. V. (DZNE) Magdeburg

²Universitätsklinikum Magdeburg, Neurologie

³Fraunhofer MEVIS, Bremen

⁴Peter L. Reichertz Institut für Medizinische Informatik der TU Braunschweig und der Medizinischen Hochschule Hannover

*Supervisor der Promotion

**Studienleiterin

Bei Patienten mit zerebraler Mikroangiopathie (cerebral small vessel disease, CSVD) kommt es zu pathologischen Veränderungen kleiner Gefäße und Kapillaren. Ursächlich für die Mikroangiopathie sind meist ein Bluthochdruck und ein fortgeschrittenes Lebensalter. Folgen der CSVD sind Demenzen und Schlaganfälle. Eine Magnetresonanztomographie (MRT) des Kopfes erlaubt eine frühzeitige Diagnose der Mikroangiopathie, in einem präventiv und therapeutisch relevanten Zeitfenster. Zu den typischen Parenchymschäden zählen erweiterte perivaskuläre Räume (enlarged perivascular spaces, EPVS), die mit einer gestörten perivaskulären Drainage und der β -Amyloid-Akkumulation in Zusammenhang gebracht werden. In der sequentiellen Entwicklung der CSVD spielen zudem Veränderungen der zerebralen Perfusion eine zentrale Rolle. Ziel dieser Arbeit ist es, Zusammenhänge zwischen Perfusion und EPVS zu untersuchen, und deren Assoziation zur kognitiven Funktion bei CSVD zu verstehen.

Die Studienpopulation besteht aus 44 Probanden (22 CSVD-Patienten, davon 13 mit hypertensiver CSVD (HA) und 9 mit amyloidogener CSVD (zerebrale

Amyloidangiopathie, CAA); 22 Kontrollprobanden) aus einer gemeinsamen longitudinalen Studie der Klinik für Neurologie und des DZNE.

Die Auswertung von T2-gewichteten MRT-Aufnahmen zeigt bei HA eine signifikante Erhöhung der Anzahl EPVS in den Basalganglien (Bg). Perfusionsgewichtete MRT-Aufnahmen (mittels arterieller Spinmarkierung) zeigen eine signifikante Minderperfusion innerhalb des Marklagers. Bei CSVD kommt es zu verlängerten Ankunftszeiten des arteriellen Blutes (arterial transit time, ATT) im Gewebe, wobei die mittlere ATT der Bg und des Hippokampus mit der Anzahl der Bg EPVS korreliert. Überdies sind verlängerte ATTs und eine erhöhte Anzahl an EPVS mit globalen kognitiven Defiziten assoziiert (Gesamtwert der „Alzheimer’s Disease Assessment Scale“).

Unsere Ergebnisse zeigen, dass Perfusionsmessungen einen (frühen) Indikator für die parenchymale und klinische Manifestation der CSVD darstellen. Im Rahmen der Projektfortsetzung werden wir m.H. der Perfusionsbildgebung neue MRT-Marker zur Quantifizierung der perivaskulären Drainagefunktion bei CSVD etablieren, sie zum Risikoprofil der Patienten in Beziehung setzen und deren Wertigkeit als präklinischen Marker zur Prädiktion von Parenchymschäden, A β -Akkumulation und kognitiven Defiziten bei CSVD untersuchen.

25. The cellular defense mechanism against tubular ischemia is mediated through cold shock protein DbpA

C. Reichardt¹, A. Bernhardt¹, S. Brandt¹, S. Sleiman¹, J. A. Lindquist¹, S. Weinert², A. Mathew³, B. Isermann³, A. Dudeck⁴, P. R. Mertens¹

¹Clinic of Nephrology and Hypertension, Diabetes and Endocrinology, Otto-von-Guericke University Magdeburg

²Clinic of Cardiology and Angiology, Otto-von-Guericke University Magdeburg

³Institute of Laboratory Medicine, Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, University Leipzig

⁴Institute of Molecular and Clinical Immunology, Otto-von-Guericke University Magdeburg

DNA binding protein A (DbpA; Y-box binding protein-3, Ybx3) belongs to the cold shock protein superfamily with known influence on cell proliferation, transcription, translation and cell-cell communication. DbpA is ubiquitously expressed during development and downregulated following birth. Upregulated DbpA expression is observed in various kidney disease. Whether DbpA plays a role during renal ischemia reperfusion injury (IRI) is unclear.

Since DbpA is expressed during development, we expect that DbpA affects the tubular cell type composition in the kidney. We investigated epithelial cell types of healthy Ybx3+/+, Ybx3-/+ and Ybx3-/- mice. No significant differences in the cell type composition were observed. Primary tubular epithelial cells revealed a co-localization of DbpA and mitochondria in vitro. Mitochondrial function were assessed and the oxygen consumption rates determined. A deletion of DbpA protein resulted in enhanced mitochondrial respiration in primary tubular epithelial cells. Ybx3-/+ and Ybx3-/- cells showed significantly higher levels of basal respiration and maximal respiration compared to Ybx3+/+ cells. Ybx3-/- mice demonstrated reduced kidney damage after IRI. Immune cell infiltration, cytokine/chemokine release, plasma creatinine level and NGAL expression were reduced compared to wild type animals following transient hypoxia.



MEDIZINISCHE FAKULTÄT

RESEARCH
DAYS 

These findings indicate a prominent role of DbpA in cell metabolism, mitochondrial function and demonstrate the relevance of DbpA in maladaptive processes at the physiological filtration barrier of tubular structures.