

Aus der Klinik für Unfall- und Handchirurgie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf

Bedeutung des Tryptophan-Stoffwechsels bei der
posttraumatischen Entstehung von SIRS und Sepsis

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf

vorgelegt von
Jennifer Reipen

2009

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez. Herr Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf
Dekan der Medizinischen Fakultät

Referent: Herr Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf
Koreferent: Herr Prof. Dr. med. Detlef Kindgen-Milles

1. EINLEITUNG.....	5
POLYTRAUMA.....	5
SIRS UND SEPSIS.....	6
DER TRYPTOPHAN-STOFFWECHSEL.....	7
IMMUNREAKTION NACH TRAUMA.....	10
IMMUNOLOGISCHE DYSREGULATION.....	11
ZIELSETZUNG DIESER ARBEIT.....	13
2. PATIENTEN, MATERIAL UND METHODEN	14
PATIENTEN.....	14
MATERIAL.....	15
<i>Geräte</i>	15
<i>Chemikalien, Lösungen, Medien</i>	16
METHODEN.....	16
<i>Blutentnahme</i>	16
<i>Aufbereitung</i>	17
<i>High Performance Liquid Chromatography</i>	18
<i>Statistische Auswertung</i>	20
3. ERGEBNISSE	21
PATIENTEN.....	21
TRYPTOPHAN UND KYNURENIN.....	22
<i>Sepsis und Nicht-Sepsis</i>	22
<i>Verletzungsmuster</i>	25
DIAGNOSTISCHES POTENZIAL.....	29
ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE.....	31
4. DISKUSSION	32
PATIENTEN.....	32
TRYPTOPHAN UND KYNURENIN.....	35
SEPSIS UND NICHT-SEPSIS.....	38
VERLETZUNGSMUSTER.....	41
DIAGNOSTISCHES POTENZIAL.....	42
ZIELSETZUNG.....	44
5. ZUSAMMENFASSUNG	45
6. LITERATURVERZEICHNIS	47
7. ANHANG	54
PUBLIKATIONEN.....	54
DANKSAGUNG.....	58
EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG.....	59
LEBENS LAUF.....	60

1. Einleitung

In der Bevölkerung der Bundesrepublik Deutschland stellen Unfälle bei den Menschen unter 65 Jahren eine der Haupttodesursachen dar [1]. Neben der schnellen und optimalen Versorgung der Verletzungen spielt die Behandlung der im Verlauf auftretenden Komplikationen für das Überleben der Patienten eine immer größere Rolle [2]. Mitverantwortlich für diese Komplikationen, wie Multiorganversagen (MODS), Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) und Sepsis, kann die Entwicklung einer Immundysregulation nach dem Trauma sein [3]. Eine Möglichkeit, die Mortalität auf der Intensivstation bei diesen Patienten zu senken, könnte die frühe Erkennung und Prävention der Immundysregulation sein.

Doch ausreichende prädiktive Marker zur posttraumatischen Entstehung von SIRS und Sepsis sowie spezifische präventive Maßnahmen existieren derzeit nicht. In letzter Zeit konnten in Studien immer wieder Hinweise gefunden werden, dass der Tryptophanstoffwechsel eine Schlüsselrolle bei der Steuerung des immunologischen Gleichgewichts zwischen Immunabwehr und Toleranz nach einem Polytrauma spielt [4-10]. Die durch das Enzym Indoleamin 2,3-Dioxygenase (IDO) entstehenden Abbauprodukte von Tryptophan, z.B. Kynurenin, können zusätzlich Organschäden bewirken [5]. Daher sollte die Rolle des IDO vermittelten Tryptophankatabolismus im Rahmen der posttraumatischen SIRS-Entstehung und die Wertigkeit der Parameter Tryptophan, Kynurenin und Kynurenin:Tryptophan Quotient (Kyn:Trpt Quotient) zur Früherkennung einer Sepsis und Multiorganversagen untersucht werden.

Polytrauma

In der Bundesrepublik Deutschland ereignen sich jährlich ca. 7-8 Mio. Unfälle mit ca. 580.000 Verletzten [1] von denen über 30.000 ein Polytrauma (ISS ≥ 16) erleiden [11, 12]. Ein Polytrauma ist definiert als eine gleichzeitige Verletzung mehrerer Körperregionen oder Organsysteme, von denen mindestens eine oder die Kombination mehrerer lebensbedrohlich ist [13]. Sowohl an der Verbesserung der Behandlungsabläufe im Schockraum als auch an der primären chirurgischen Versorgung der Schwerverletzten wird ständig gearbeitet. Doch die Herausforderung in der Betreuung dieser Patienten besteht nicht nur in der Versorgung der initialen

Verletzungen, sondern auch der pathophysiologischen Folgezustände, die sich während des stationären Aufenthalts entwickeln. So formten Friedl et al 1992 eine moderne Auffassung des Polytraumas als erworbenes Immundefektsyndrom [14] mit den daraus resultierenden sekundären Komplikationen wie SIRS, Sepsis und Multiorganversagen. Diese posttraumatische Fehlregulierung des Immunsystems erhöht nicht nur die Morbidität und Mortalität der Patienten, sondern verursacht auch ca. 30% der Kosten auf deutschen Intensivstationen [15].

SIRS und Sepsis

Der Begriff des Systemic Inflammatory Response Syndroms (SIRS) bezeichnet einen Symptomkomplex, der im Rahmen einer Infektion, aber auch nach nichtinfektiösen Ereignissen, wie zum Beispiel einem Trauma, beobachtet werden kann. Ein SIRS liegt vor, wenn 2 der folgenden 4 Kriterien erfüllt sind [16].

- Temperatur $\geq 38^{\circ}\text{C}$ oder $\leq 36^{\circ}\text{C}$, bestätigt durch eine rektale, intravasale oder intravesikale Messung
- Herzfrequenz ≥ 90 /min
- Atemfrequenz ≥ 20 /min oder $\text{PaCO}_2 \leq 4,3$ kPa/ ≤ 33 mmHg
- Leukozytose mit ≥ 12000 / mm^3 oder Leukopenie ≤ 4000 / mm^3 oder ≥ 10 % unreife Neutrophile im Differentialblutbild

Gelingt zudem die Diagnose einer Infektion über den mikrobiologischen Nachweis oder anhand klinischer Kriterien liegt eine Sepsis vor [16]. Nach Erhebungen des vom Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) geförderten Kompetenznetzwerkes Sepsis (SepNet) erkrankten in Deutschland pro Jahr ca. 79.000 Einwohner an einer Sepsis, von denen ca. 60.000 versterben. Damit stellen die septischen Erkrankungen die dritthäufigste Todesursache nach dem akuten Myokardinfarkt dar [15].

Von den polytraumatisierten Patienten erleiden ca. 30 % eine schwere Sepsis, d.h. neben den Kriterien einer Sepsis besteht zusätzlich eine akute Dysfunktion mindestens eines Organsystems [16, 17]. Insgesamt entwickeln etwa 15 % ein Multiple Organ Dysfunction Syndrome (MODS) [18].

Die Kriterien für ein MODS sind erfüllt, wenn mindestens zwei oder mehr Organsysteme in ihrer Funktion beeinträchtigt sind. Betrachtet werden dabei das pulmonale, kardiovaskuläre, renale, hepatische und das hämatologische System.

Da die Prognose mit Zunahme der Dysfunktion der Organsysteme schlechter wird, besteht großes Interesse an frühzeitigen prädiktiven Markern.

Der Tryptophan-Stoffwechsel

Tryptophan ist eine essentielle Aminosäure, die definitionsgemäß nicht vom Körper synthetisiert werden kann und deshalb mit der Nahrung zugeführt werden muss. Über das Blut wird Tryptophan in alle Zellen verteilt, wo es für die Proteinbiosynthese gebraucht wird [9]. Im ZNS katalysiert das Enzym Tryptophan-5-Monooxygenase die Bildung des Neurotransmitters Serotonin aus Tryptophan. Serotonin ist wiederum Vorstufe für die Synthese von Melatonin in der Hypophyse.

Der größte Teil des Tryptophans wird über den Kynureninweg in N-Formylkynurenin gespalten. Es existieren zwei Enzyme, die diesen Weg katalysieren: zum einen die Tryptophan 2,3-Dioxygenase, die besonders in der Leber die Serumkonzentration des Tryptophans reguliert, und zum anderen die Indoleamin 2,3-Dioxygenase. Die Indoleamin-2,3-Dioxygenase ist ein Hämenzym, das die oxidative Spaltung des Indolringes des Tryptophans, den ersten und limitierenden Schritt des Tryptophanabbaus über den Kynureninweg, katalysiert. Die Kynurenin-Formylase setzt dann das N-Formylkynurenin weiter zu Kynurenin und Formiat um. Im weiteren Abbauweg entsteht das Chinolat aus dem über die Chinolatphosphorybosyltransferase das Nicotinsäuremononucleotid gebildet wird [19-21].

Die Transkription des IDO Gens wird stark von $\text{IFN}\gamma$ und nur schwach von anderen Interferonen induziert [22]. Durch die Induktion kommt es in der Zelle zum verstärkten Abbau von Tryptophan [23]. Zunächst wurde diese Tryptophandepletion nur als Abwehrmechanismus gegen intrazelluläre Parasiten, maligne Zellen und andere Pathogene wie Pilze verstanden, da nicht nur eukaryote Zellen, sondern auch prokaryote Zellen ohne diese Aminosäure nicht überleben können [7, 24-31]. Dieses Konzept musste erweitert werden als entdeckt wurde, dass der

Tryptophankatabolismus über die Abwehr hinaus, auch für die Immuntoleranz eine wichtige Rolle spielt. So führte die Hemmung der IDO bei schwangeren Mäusen zur Abstoßung allogener Feten [32]. In Studien konnte gezeigt werden, dass die Tryptophandepletion über eine Steigerung der IDO-Aktivität in Dendritischen Zellen zu einer T-Zell Anergie und damit zur Immuntoleranz führt [8, 33].

Um die körpereigenen, IDO exprimierenden Zellen vor der Tryptophandepletion im Rahmen der Abwehr zu schützen, stimuliert Interferon- γ (IFN γ) auch die Transkription der Tryptophanyl-tRNA-Synthetase [34]. Die Tryptophanyl-tRNA-Synthetase ist ein ubiquitäres Enzym, das Tryptophan intrazellulär an seine spezifische tRNA bindet. Die entstehenden Tryptophan-tRNA Komplexe können dann direkt für die Proteinsynthese verwendet werden, da der so gebundene Teil der Aminosäure nicht mehr durch die IDO abgebaut werden kann. Dieser Mechanismus versorgt die Zelle mit einem Tryptophanvorrat, der nicht mehr Parasiten oder anderen Erregern zur Verfügung steht [35-39].

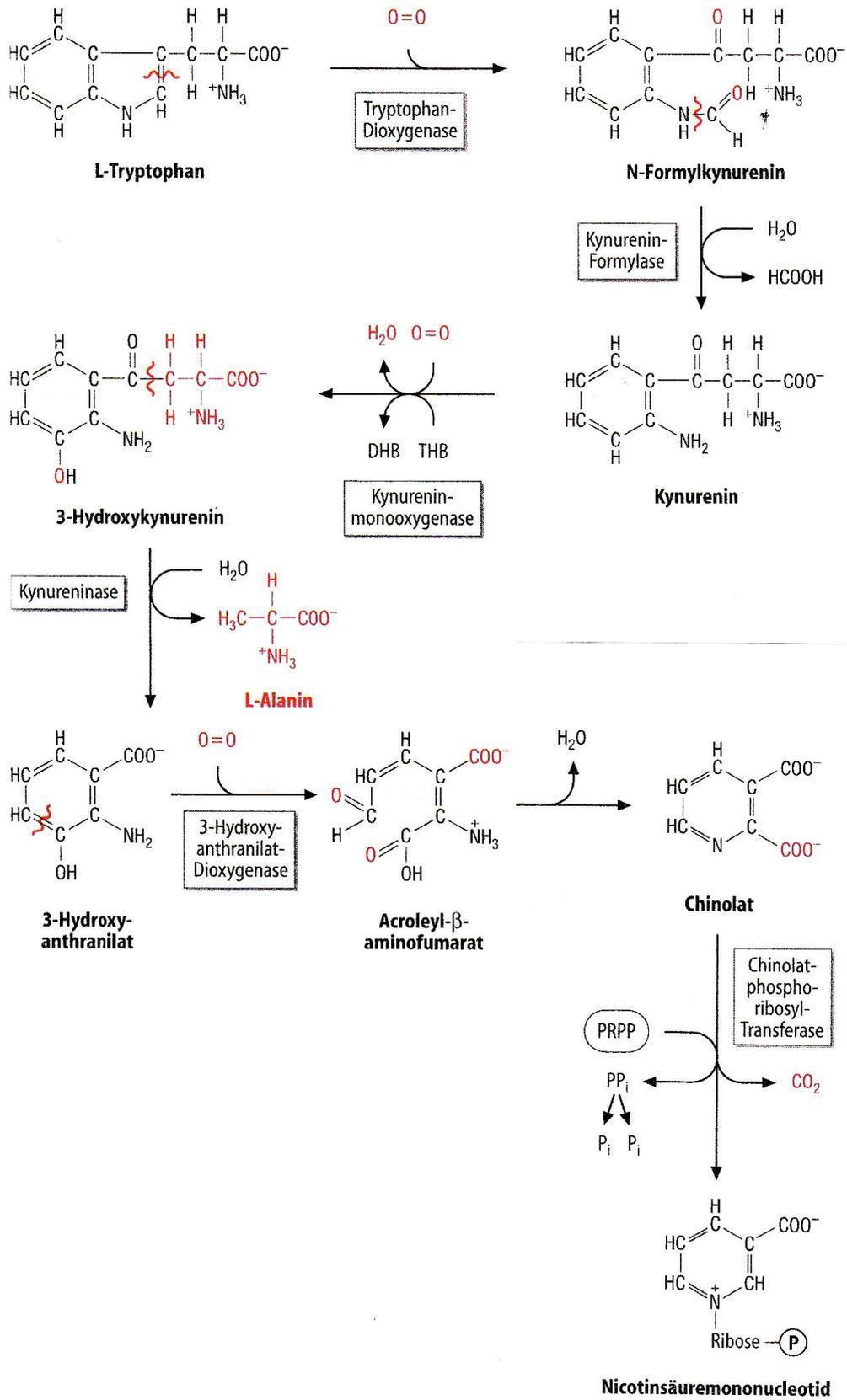


Abb. Modifiziert nach [19]

Diesem Enzym scheint über die Regulation der Tryptophankonzentration so eine wichtige modulatorische Eigenschaft zwischen Immuntoleranz und Abwehr zuzukommen. Erst kürzlich konnte die Arbeitsgruppe von Däubener zeigen, dass in den verschiedenen Stadien der Immunantwort die Aktivität derIDO variiert. Die Tryptophandepletion hat dabei zunächst einen antimikrobiellen Effekt und mit sinkender Tryptophankonzentration dann eine Inhibition der T-Zellen zur Folge [40]. Neben der Konzentration des Tryptophans konnte auch die Bedeutung des Kynurenins und seiner Metabolite gezeigt werden. Della Chiesa et al. wiesen für L-Kynurenin eine Beeinflussung und reversible Inhibition der Funktion natürlicher Killerzellen nach [5]. Darüber hinaus verursachen das Kynurenin und seine Metabolite, wie das 3-Hydroxykynurenin und das Chinolat, direkte Gewebe- und Organschäden und scheinen auch neurotoxische Wirkung zu haben [5, 10, 32, 41-43]. Die Bedeutung dieser Stoffe für die Organschäden und Dysfunktionen nach Trauma ist bisher nicht untersucht.

Immunreaktion nach Trauma

Das Immunsystem des menschlichen Körpers reagiert auf eingedrungene Krankheitserreger oder absterbendes Gewebe, wie nach ausgedehnten Operationen oder schweren Unfällen, mit einer Entzündungsreaktion. Im Gewebe ansässige Makrophagen sezernieren neben Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- α) und Interleukin-1 (IL-1) als einen der ersten Botenstoffe Interleukin-6 (IL-6) und locken somit weitere Abwehrzellen aus der Blutbahn an.

Von den Makrophagen angelockt verlassen die neutrophilen Granulozyten als weitere primäre Abwehrzellen der angeborenen Immunität, die Blutbahn. Im Extrazellularraum tragen sie zur Eliminierung körperfremder Stoffe bei, in dem sie diese in intrazelluläre Vesikel, die Phagosomen, aufnehmen, die dann mit den Lysosomen, die proteolytische Enzyme enthalten, verschmelzen [44]. Neben den neutrophilen Granulozyten werden auch TH1-Zellen von den Makrophagen angelockt. Sie produzieren am Ort der Abwehr pro-inflammatorische Zytokine wie IFN- γ , das die Makrophagen zusätzlich aktiviert und zur Phagozytose stimuliert. Gleichzeitig verstärken die T-Helferzellen die zytotoxische Potenz der Natürlichen Killerzellen und induzieren die Antikörperproduktion der eingewanderten B-Zellen.

Neben der Aktivierung der Makrophagen induziert $\text{IFN-}\gamma$ auch die Expression der Indoleamin 2,3- Dioxygenase und damit den Tryptophankatabolismus. Das sezernierte $\text{TNF-}\alpha$ führt zu einer Erhöhung der Gefäßpermeabilität und mobilisiert zusätzlich die im Gewebe ansässigen Dendritischen Zellen (DC). Die DC gelangen über die Lymphbahnen in die Lymphknoten und aktivieren dort die T-Zellen. In diesem Stadium der Abwehr greifen viele Faktoren der angeborenen und erworbenen Immunität ineinander.

Gleichzeitig mit der Inflammation nach dem Trauma setzt die Immunsuppression, als physiologischer Feedbackmechanismus, ein um die inflammatorischen Vorgänge zu modulieren. Diese Gegenregulation wird oft als compensary anti-inflammatory response syndrome (CARS) bezeichnet. Im Rahmen dieser Mechanismen kommt es zusätzlich zu den bereits genannten proinflammatorischen Zytokinen, auch zur Ausschüttung antiinflammatorischer Moleküle, wie zum Beispiel das Interleukin 10 (IL-10) [45]. Dabei konnte eine gute Korrelation für die Höhe des IL-10 und die posttraumatische Morbidität gezeigt werden [46, 47].

Immunologische Dysregulation

Nach einem Trauma spielt die Balance zwischen pro- und antiinflammatorischen Faktoren im Rahmen der Immunantwort des Körpers eine große Rolle [48, 49]. Ein Überwiegen der proinflammatorischen Mediatoren kann zu einer Hyperinflammation und konsekutiv zu Organschäden und Multiorganversagen führen. Überwiegen jedoch die antiinflammatorischen Faktoren erhöht sich das Risiko einer Infektion und damit der Entwicklung einer Sepsis [50-52]. Die Mechanismen, die diese Balance Aufrecht erhalten sind bisher noch unklar.

Für die Betrachtung der posttraumatischen Immunreaktion konnte Interferon Gamma ($\text{IFN-}\gamma$) als besonders bedeutsamer inflammatorischer Mediator identifiziert werden, da dieser in deutlich erhöhten Konzentrationen bei polytraumatisierten Patienten nachgewiesen werden konnte [4]. $\text{IFN-}\gamma$ wiederum beeinflusst die Aktivität der IDO. Die daraus resultierende Tryptophandepletion spielt eine wichtige Rolle im Rahmen der Steuerung des inflammatorischen Immungeschehens. Zum einen ist ein Mangel

dieser essentiellen Aminosäure ein wichtiger limitierender Faktor in der klonalen Vermehrung der Lymphozyten im Rahmen der Immunabwehr [48]. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass die Aktivität derIDO in Dendritischen Zellen die Funktion der T-Zellen mit bestimmt. Eine erhöhteIDO-Aktivität in diesen Zellen führt über die Tryptophandepletion zu einer T-Zell Anergie und zu immunologischer Toleranzentwicklung [8, 23, 33, 53]. Physiologisch scheint dieser Mechanismus zum Beispiel für den Ablauf einer normalen Schwangerschaft zu sein, die auf die Toleranz des mütterlichen Organismus gegenüber dem Feten angewiesen ist [27].

Das unterschiedliche Zusammenspiel von $\text{IFN-}\gamma$, Tryptophandepletion, Lymphozytopenie und veränderter T-Zell Aktivität konnte im Rahmen verschiedener Krankheiten, wie z.B. viralen Infektionen, Autoimmunprozessen und malignen Erkrankungen als Faktor für eine erhöhte Morbidität und Letalität der Patienten identifiziert werden [54-57]. Auch für die immunologischen Vorgänge nach einem Trauma lassen sich diese Zusammenhänge vermuten. Pellegrin et al konnten bereits erniedrigte Tryptophankonzentrationen bei Patienten im Schockraum messen [4].

Eine Aussage über eine mögliche Korrelation der Höhe der Tryptophan- und Kynureninspiegel nach einem Trauma und der Morbidität konnte bisher nicht getroffen werden. Auch der prognostische Wert dieser Parameter ist bisher nicht untersucht. Tryptophan und dessen Abbauprodukte scheinen eine Schlüsselrolle bei der Steuerung immunologischer Prozesse nach einem Polytrauma zu spielen. In dieser Studie sollte daher die Rolle des Tryptophankatabolismus über den Kynureninweg im Rahmen der posttraumatischen Entstehung von SIRS und Sepsis untersucht werden. Dazu wurden folgende Fragestellungen formuliert:

Zielsetzung dieser Arbeit

Ziel dieser Studie war die Untersuchung der Rolle des Tryptophankatabolismus im Rahmen der posttraumatischen Entstehung von SIRS und Sepsis. Dazu wurde die Konzentration von Tryptophan und dessen Abbauprodukt Kynurenin im Blut von polytraumatisierten Patienten bestimmt und der daraus zu errechnenden Kynurenin:Tryptophan-Quotient berechnet.

So ergaben sich folgende Fragen:

- Lassen sich nach einem Polytrauma im Serum erniedrigte Tryptophan- und erhöhte Kynureninkonzentrationen messen?
- Ist der Kynurenin:Tryptophan-Quotient im Vergleich zu Normalpersonen verändert?
- Unterscheidet sich die Höhe der gemessenen Konzentrationen bei Patienten mit und ohne Entwicklung einer Sepsis nach Trauma?

Da bisher keine Studien zur Höhe der Kynureninspiegel bei unterschiedlichen Organschäden vorliegen wurde zusätzlich der Zusammenhang der posttraumatischen Kynureninspiegel und der verschiedenen Verletzungsmuster untersucht. Insbesondere wurde auch analysiert, wie gut die Parameter des Tryptophanmetabolismus mit dem weiteren Verlauf, also der Entwicklung einer Sepsis und einem Multiorganversagen, korrelieren und damit als prognostische Marker genutzt werden könnten.

Zusätzlich ergaben sich damit folgende Fragestellungen:

- Führt die Verletzung des Körperstamms zu anderen Konzentrationen von Tryptophan und Kynurenin als die Verletzung der Extremitäten?
- Erlaubt der Quotient aus Tryptophan und Kynurenin eine frühe prognostische Aussage über den posttraumatischen Verlauf des Patienten?

2. Patienten, Material und Methoden

Patienten

Zwischen Mai 2006 und Januar 2008 wurden 60 Patienten, die mit der Diagnose eines Polytraumas mit penetrierendem oder stumpfen Verletzungen und einem ISS > 16 in die Notaufnahme der Klinik für Unfall- und Handchirurgie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf eingeliefert wurden, in die Studie aufgenommen. Dabei wurden die Definitionskriterien eines Polytraumas nach Tscherne, nämlich „gleichzeitig entstandene Verletzung mehrerer Körperregionen oder Organsysteme, wobei wenigstens eine Verletzung oder die Kombination mehrerer Verletzungen lebensbedrohlich ist“ [13] zugrunde gelegt. Als Ausschlusskriterien galten fehlendes Einverständnis der Patienten und Tod innerhalb der ersten 24 Stunden. Signifikante Vorerkrankungen wurden nicht berücksichtigt, doch war bei keinem Patienten eine immunologische Grunderkrankung oder eine immunsuppressive Therapie bekannt.

Die einzelnen Patienten wurden gemäß ihrer Verletzungen in der Unfallchirurgischen oder der Neurochirurgischen Klinik weiter behandelt und dort über mindestens 10 Tage weiter beobachtet. 54 von 60 Patienten (89.9 %) wurden am Aufnahmetag operiert, drei am ersten Tag, zwei am zweiten Tag und ein Patient am vierten Tag nach dem Trauma. Alle Patienten wurden über einen zentralen Venenkatheter parenteral ernährt (Aminosteril® N-HEPA 8% (Fresenius Kabi, GmbH, Austria), Lipofundin MCT 20 % (B.Braun Melsungen AG, Germany), Glucose 50 % gewichtsadaptiert).

Ab der Unfallstelle wurden alle hämodynamischen, respiratorischen und laborchemischen Daten mittels Microsoft Excel prospektiv erfasst und die Verletzungsschwere mit dem Injury Severity Score [ISS] nach Baker [58] basierend auf der Abbreviated Injury Scale (AIS) eingeschätzt [59]. Dabei werden die Verletzungen nach dem AIS nach Ihrer Schwere von 0 (unverletzt) bis 6 (tödlich) bewertet und dann den sechs Körperregionen Schädel-Hals, Gesicht, Thorax, Abdomen, Extremitäten und Weichteile zugeordnet. Der ISS berechnet sich dann

aus der Summe der Quadrate der drei höchsten AIS-Werte und nimmt somit einen Endwert zwischen 0 und 75 Punkte an.

Zur Klassifikation eines SIRS oder einer Sepsis wurden die Kriterien der Internationalen Sepsis Definitions Konferenz von 2001 benutzt [60]. Somit galten Patienten als septisch wenn sie die Kriterien eines Systemic Inflammatory Response Syndrom (SIRS) erfüllten und zusätzlich ein Infektionsfokus gefunden werden konnte.

Zur Überwachung und Einschätzung der Organdysfunktion wurde über mindestens 10 Tage alle 24 Stunden der Multiple Organ Dysfunction Score (MODS) [61] erhoben (Tabelle 2).

	0	1	2	3	4
Atmung PaO ₂ / FiO ₂ mmHg	> 300	226 -300	151 -225	76 -150	≤ 75
Thrombozyten x10 ³ /mm ³	> 120	81 -120	51 -80	21 -50	≤ 20
Bilirubin mg/dl	≤ 1,2	1,3 -3,5	3,6 -7,0	7,1 -14,0	>14,0
Herz-Kreislauf HF x ZVD x MAD	≤ 10,0	10,1 -15,0	15,1 -20,0	20,1 -30,0	> 30,0
Glasgow Coma Scale	15	13-14	10-12	7-9	≤ 6
Kreatinin mg/dl	≤ 1,1	1,2 -2,3	2,4 -4,0	4,1 -5,7	> 5,7

Tabelle 2: MODS (Multiple Organ Dysfunction Score) nach Marshall JC et al [61]

Material

Geräte

- Fresco 17 Thermo Zentrifuge
- Victor 3 Perkin Elmer
- Schüttler KS250/ IKA Labortechnik
- High Performance Liquid Chromatographie, Alliance Separation Module, Waters 2690, USA
- UV-Detektor, Dual λ Absorbance Detector; Waters 2487, USA
- Fluoreszenz Detektor, Fluorescence Detector; Waters 474, USA

Chemikalien, Lösungen, Medien

- Serumröhrchen, Vacutainer SST II Advance, REF 366566, BD, UK
- Eppendorf Tubes 1,5 ml; 0,5 ml
- Methanol Chromasolv für die HPLC, Sigma
- Glasflaschen, neck vial, Waters
- mobile Phase 4,08 g KH₂PO₄ in 2000 ml H₂O und 80 ml Acetonitril
- Säule EC 250/4.6, Nucleodur C18 Pyramid 5 µ; Macherey-Nagel, D
- kurze Vorsäule C18; Größe 4x3 mm; Phenomenex, USA
- L-Tryptophan, Sigma-Aldrich, USA
- L-Kynurenin, Merck, D
- Pipetten Eppendorf Research und Reference jeweils in den Größen 0,5-10 µl/
10-100 µl/ 100-1000 µl
- Pipettenspitzen von Eppendorf und StarLab
- Combitips Plus 10 ml Eppendorf
- Filter Tips/ Star Lab
- Multipette plus, Eppendorf

Methoden

Die durchgeführte Studie wurde von der Ethikkommission der Universitätsklinik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf geprüft und genehmigt. Von allen Patienten lag vor Einschluss in die Studie das schriftliche Einverständnis vor. Bei intubierten oder nicht ansprechbaren Patienten wurde das Einverständnis durch die Angehörigen oder unmittelbar nach Wiedererlangen des Bewusstseins eingeholt.

Blutentnahme

Die Dokumentation der Patienten begann am Unfalltag, Tag 1, mit der Aufnahme in die Notfallambulanz und die Blutabnahme im Schockraum. Dazu wurde ein Blutabnahmeset für den Schockraum entwickelt um sicherzustellen, dass die Proben unmittelbar nach Eintreffen der Schwerverletzten gewonnen werden konnten.



Abbildung 1: Polytrauma-Box

An den Tagen 2 – 11 wurde den Patienten jeweils morgens, um Einflüsse durch die zirkardiane Rhythmik weitmöglichst auszuschließen, eine venöse Blutprobe entnommen. Darüber hinaus wurden die Routinelaborparameter: Leukozytenzahl, Erythrozytenzahl, Thrombozytenzahl, Hämoglobin, Kreatinin, Harnstoff, C-reaktives Protein, Laktatdehydrogenase, Quick, Partielle Thromboplastin Zeit (pTT), Elektrolyte, Kreatinkinase und Gesamtbilirubin; aus der morgendlichen Blutabnahme im Zentrallabor bestimmt und in die Dokumentation aufgenommen.

Täglich wurden somit folgende Materialien gewonnen:

- Serum (5 ml)
Vacutainer SST II Advance, REF 366566, BD, UK

Aufbereitung

Zur vollständigen Gerinnung wurde das Serumröhrchen für eine halbe Stunde bei Raumtemperatur ruhen gelassen und danach 6 min bei 1700 g und 4°C in der Zentrifuge (Megafuge 1.0R Thermo, D) zentrifugiert. Das so gewonnene Serum wurde abpipettiert und in Eppendorf Tubes (Safe Lock Tubes 1,5 ml, Eppendorf, D) zu je 100 µl aliquotiert und bei -20°C eingefroren.

High Performance Liquid Chromatography

Die High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ist ein chromatographisches Trennverfahren bei dem die zu untersuchende Substanz zusammen mit einem Laufmittel, der mobilen Phase „Eluent“, durch eine Trennsäule gepumpt wird, in der sich die stationäre Phase befindet. Die Substanz reagiert mit der stationären Phase, wobei sich je nach Wechselwirkungsgrad unterschiedliche Retentionszeiten ergeben. Anhand dieser Retentionszeiten kann die Substanz identifiziert und quantifiziert werden. Der Trennsäule nachgeschaltet sind ein UV- und ein Fluoreszenzdetektor, aus deren Messwerte mit Hilfe eines Computerprogramms und anhand von Standardkurven die Substratkonzentration berechnet wird. Verwendet wurde die Methode der reversed-phase HPLC bei der eine unpolare stationäre Phase zum Einsatz kommt, da die polaren Aminosäuren in der Normalphase zu hohe Retentionszeiten aufweisen.

Eine Stunde vor Messbeginn wurde eine 100 µl Portion aufgetaut. Bei Raumtemperatur wurde dann das Serum mit 200 µl HPLC-reinem Methanol (Methanol Chromasolv V Plus, for HPLC ≥ 99,9 %, Sigma-Aldrich, USA) mit Hilfe des Vortex gemischt und anschließend bei 17.000 g 10 min bei 4°C abzentrifugiert um störende Proteine auszufällen. 200 µl des klaren Überstands wurden in eine Glasflasche (neck vial, Waters, USA) für die HPLC Messung pipettiert.

Tryptophan und Kynurenin wurden durch High Performance Liquid Chromatographie (Alliance Separation Module, Waters 2690, USA) in umgekehrter Phase in Kombination mit einem UV-Detektor (Dual λ Absorbance Detector; Waters 2487, USA) und einem Fluoreszenz Detektor (Fluorescence Detector; Waters 474, USA) nachgewiesen und quantifiziert. Die mobile Phase, bestehend aus 25 mmol KH₂PO₄ und 4 %igem Acetonitril, wurde mit einer Geschwindigkeit von 1 ml/min und einem Druck von 2000 psi bei 22°C auf die Säule (EC 250/4.6 Nucleodur C18 Pyramid 5 µ; Macherey-Nagel, D) der umgekehrten Phase aufgebracht. Zum Schutz vor Verunreinigung wurde eine kurze Vorsäule (C18; Größe 4x3 mm; Phenomenex, USA) der Hauptsäule vorgeschaltet. 10 µl je Probe wurden durch einen Autosampler mit Kühlmodul bei 5°C injiziert. Hinter der Säule wurde zunächst mit dem UV-Detektor bei 360 nm (*Kynurenin*) und danach mit dem Fluoreszenz-Detektor bei einer

Exzitationswellenlänge von 286 nm und einer Emissionswellenlänge von 366 nm (*Tryptophan*) gemessen.

Die Daten wurden durch das HPLC-Computerprogramm Millennium 32 aufgezeichnet. Zur Etablierung der Normwerte wurden in gleicher Weise die Proben von zehn gesunden Probanden gemessen, wobei sich für Tryptophan ein Mittelwert von $62.5 \pm 2.9 \mu\text{mol/l}$ und für Kynurenin von $1.63 \pm 0.09 \mu\text{mol/l}$ ergab. Für jede Probe wurde dann der Kynurenin:Tryptophan Quotient (Kyn:Trpt Quotient) ermittelt.

Statistische Auswertung

Die Statistische Auswertung wurde mittels SAS/Stat für Windows Software (SAS Institute, Inc, Cary, NC) durchgeführt. Zur besseren Darstellung der Normalverteilung und zum Ausgleich der Varianzen wurden die Logarithmen der Daten verwendet. Zur Erfassung der Gruppenunterschiede wurde eine univariate Varianzanalyse (ANOVA) mit der Zeit als Faktor durchgeführt. Fehlende Werte wurden durch den letzten gemessenen Wert dieser Variablen ersetzt (LOCF). Die Receiver Operating Characteristics (ROC) wurden mittels SPSS (SPSS, Chicago, USA) bestimmt. Bei dieser Methode zur Grenzwertoptimierung wird die Effizienz von der Fehlerrate dargestellt. Sie umfasst die Ermittlung der relativen Häufigkeitsverteilung für jeden möglichen Grenzwert und die Berechnung der entsprechenden Sensitivität und Spezifität. Danach wird in einem Diagramm die Sensitivität auf der Ordinate gegen 1- die Spezifität auf der Abszisse aufgetragen. Der Schnittpunkt einer 45° ansteigenden, durch den Nullpunkt verlaufenden Tangente mit der ROC-Kurve markiert das theoretische Optimum des Grenzwertes bei einheitlicher Skalierung beider Achsen. Im Idealfall hat die ROC-Kurve die Form einer Parabel. Je weiter die Kurve von der Diagonalen abweicht, desto größer ist die Vorhersagekraft des Parameters. Ein weiteres Maß für die prognostische Bedeutung ist die Area Under the Curve (AUC), die zwischen 0.5 und 1.0 liegen kann. Je näher der Wert an 1.0 liegt, desto größer ist die Vorhersagekraft des Tests.

Die Daten wurden als signifikant erachtet bei $p < 0.01$. Ein Bonferroni post hoc Test wurde bei $\alpha = 0.01$ durchgeführt. Die Daten sind jeweils angegeben als Mittelwert \pm Standardabweichung (Mean \pm SEM).

3. Ergebnisse

Patienten

Das Patientenkollektiv setzte sich zusammen aus 60 Patienten, 15 weiblich und 45 männlich, die in die Notfallambulanz der Klinik für Unfall- und Handchirurgie des Universitätsklinikums Düsseldorf eingeliefert wurden. Im Durchschnitt waren die Patienten 45.8 ± 2.6 Jahre alt (Range 15-92 Jahre), die Verletzungsschwere lag nach ISS im Mittel bei 30.9 ± 1.4 (Range 16-57) und die Liegedauer auf der Intensivstation betrug 19.7 ± 3.0 Tage (Range 1-147 Tage). Die demographischen Daten und die initialen Blutwerte wie Quick, Laktat und Base Excess (BE) sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Alle Patienten erfüllten die Kriterien einer SIRS von Tag 1 bis Tag 10 nach dem Unfall. 17 der 60 Patienten entwickelten 9.4 Tage (Range 4-21 Tage) nach Aufnahme eine Sepsis, wovon fünf im Mittel nach 55.2 ± 23.3 Tage posttraumatisch an multiplen Organversagen verstarben. Bei jedem dieser fünf Patienten wurde bei Aufnahme ein Quick-Wert unter 70 % und ein BE von weniger als -3.0 mM gemessen. Aus diesen Beobachtungen ergaben sich zwei Gruppen, die Patienten ohne septischen und diese mit septischem Verlauf.

Patienten	Alter (Jahren)	ISS	Intensiv (Tagen)	Sepsis (%)	Tod (%)	Quick (%)	Laktat (mM)	BE (mM)
Alle (n=60)	45.8 ± 2.6	30.9 ± 1.4	19.7 ± 3.0	28.3	8.3	70.6 ± 3.1	3.0 ± 0.3	-2.8 ± 0.5
ohne Sepsis (n=43)	42.4 ± 2.9	28.8 ± 1.7	10.6 ± 1.3	0.0	0.0	77.4 ± 2.7	2.5 ± 0.2	-2.1 ± 0.4
mit Sepsis (n=17)	54.4 ± 4.5	36.1 ± 2.1	42.9 ± 7.9^a	100.0	29.4	53.5 ± 7.0^a	4.4 ± 0.8^a	-4.8 ± 1.5

Tabelle 3: Demographische Daten, ISS, initiale Blutwerte

ISS = Injury Severity Score, Intensiv = Hospitalisationszeit auf der Intensivstation, BE = Base Excess, SHT = Schädel-Hirn Trauma, Thorax, Abdomen und Frakturen = Gruppierung nach den unterschiedlichen Verletzungen;

a = statistische Signifikanz ($p < 0.01$) zwischen Sepsis und Nicht-Sepsis-Gruppe; d = statistische Signifikanz ($p < 0.01$) zwischen den Gruppen mit unterschiedlichem Verletzungsmuster

Bei den 17 Patienten (2 Frauen, 15 Männer), die eine Sepsis entwickelten lag das Alter bei 54.4 ± 4.5 Tagen (Range 21-80) und der ISS bei 36.1 ± 2.1 (Range 16-50). Im Vergleich dazu lag der ISS in der Gruppe ohne Sepsis nur bei 28.8 ± 1.7 (Range 16-57; $p < 0.01$). Ein signifikanter Unterschied zwischen Sepsis und Nicht-Sepsis Gruppe ergab sich auch bei den Laktat- und Quickwerten bei Aufnahme, sowie bei der Länge der Hospitalisation auf der Intensivstation ($p < 0.01$).

Tryptophan und Kynurenin

Sepsis und Nicht-Sepsis

Bei allen polytraumatisierten Patienten konnten im Vergleich zu der Kontrollgruppe signifikant erniedrigte Tryptophanwerte ($p < 0.01$) gemessen werden, ohne signifikante Unterschiede zwischen der Sepsis und der Nicht-Sepsis Gruppe (Sepsis $30.8 \pm 4.3 \mu\text{mol/l}$ und Nicht-Sepsis $31.4 \pm 2.3 \mu\text{mol/l}$; $p > 0.01$) (Abbildung 2).

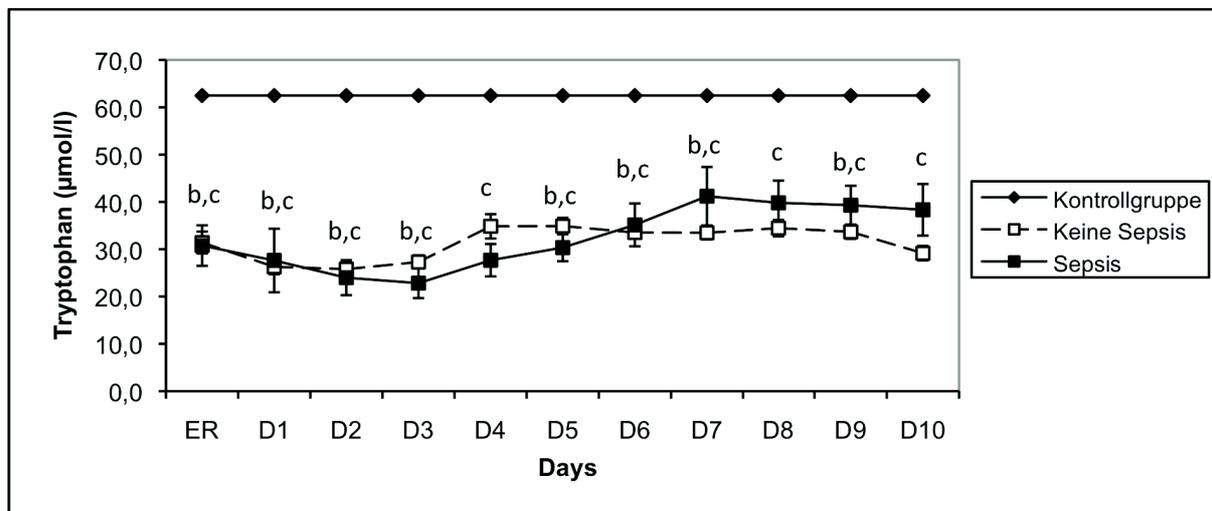


Abbildung 2: Serumtryptophankonzentrationen bis Tag 10 nach Trauma

Konzentrationen als Mittelwerte \pm SEM. ER = Schockraum. D1-D10 = Posttrauma Tag 1-10;

b = statistische Signifikanz ($p < 0.01$) zwischen Kontrollgruppe und Sepsis-Gruppe; c = statistische Signifikanz ($p < 0.01$) zwischen Kontrollgruppe und Nicht-Sepsis-Gruppe

Im Gegensatz zu den Tryptophankonzentrationen waren bei den gleichzeitig erhobenen Kynureninwerten sehr deutliche Unterschiede zwischen den beiden Gruppen messbar (Abbildung 3). Während bei den Patienten, die keine Sepsis entwickelten im Vergleich zu gesunden Personen erniedrigte Kynureninwerte am Aufnahmetag bestimmt werden konnten (ohne Sepsis $1.10 \pm 0.08 \mu\text{mol/l}$; Kontrollgruppe $1.63 \pm 0.09 \mu\text{mol/l}$; $p < 0.01$), waren diese bei Patienten, die später eine Sepsis bekamen normal (Sepsis $1.42 \pm 0.26 \mu\text{mol/l}$; $p > 0.01$). Im weiteren Verlauf stiegen allerdings die Kynureninwerte der septischen Patienten beachtlich an (Tag 3, $3.51 \pm 0.7 \mu\text{mol/l}$; Tag 6, $5.88 \pm 1.06 \mu\text{mol/l}$), während die anfänglich erniedrigten Werte der nicht-septischen Patienten sich normalisierten (Tag 3, $1.54 \pm 0.1 \mu\text{mol/l}$; Tag 6, $1.82 \pm 0.09 \mu\text{mol/l}$). Dabei ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen für die Tage 1-10 ($p < 0.01$).

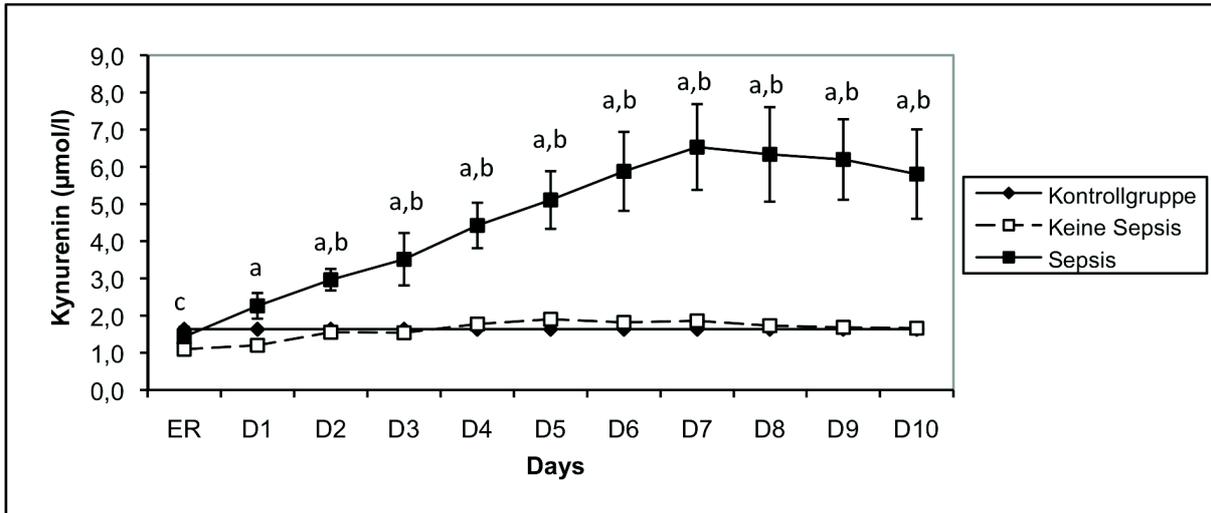


Abbildung 3: Serumkynureninkonzentrationen bis Tag 10 nach Trauma

Konzentrationen als Mittelwerte ± SEM. ER = Schockraum. D1-D10 = Posttrauma Tag 1-10;

a = statistische Signifikanz ($p < 0.01$) zwischen Sepsis und Nicht-Sepsis-Gruppe; b = statistische Signifikanz ($p < 0.01$) zwischen Kontrollgruppe und Sepsis-Gruppe; c = statistische Signifikanz ($p < 0.01$) zwischen Kontrollgruppe und Nicht-Sepsis-Gruppe

Zusammen mit diesen signifikant unterschiedlichen Verläufen der Kynureninkonzentrationen, spiegelt auch der Kyn:Trpt Quotient, als Maß desIDO vermittelten Tryptophanstoffwechsels die Unterschiede wider (Abbildung 4). So konnte für die Sepsis Gruppe schon ab Tag 1 ein signifikant erhöhter Kyn:Trpt Quotient errechnet werden ($p < 0.01$), der für die nicht septische Gruppe nie signifikant vom Kontrollwert abwich.

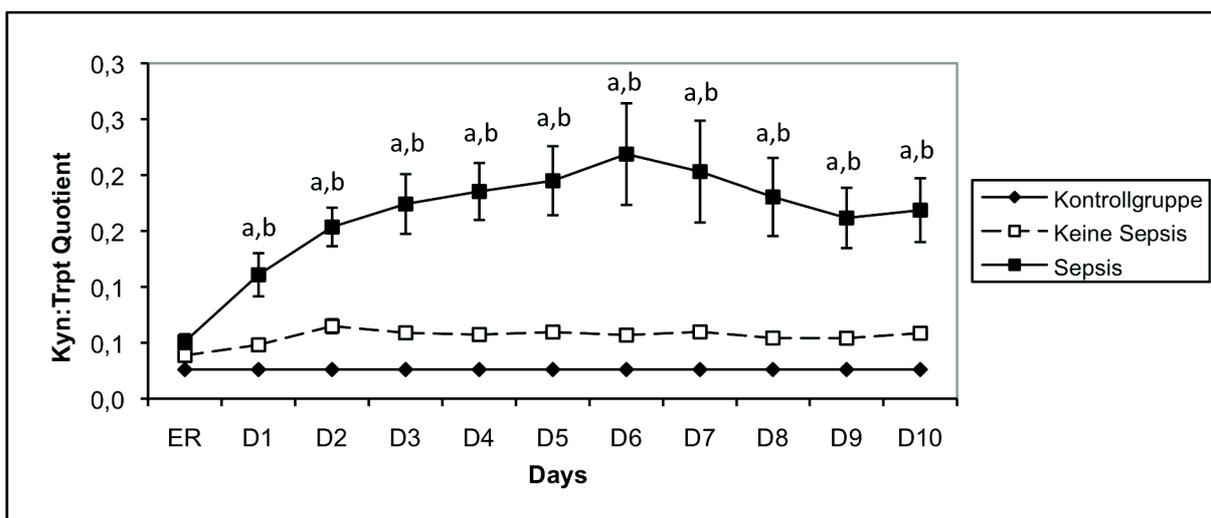


Abbildung 4: Kynurenin:Tryptophan Quotient bis Tag 10 nach Trauma

Konzentrationen als Mittelwerte ± SEM. ER = Schockraum. D1-D10 = Posttrauma Tag 1-10;

a = statistische Signifikanz ($p < 0.01$) zwischen Sepsis und Nicht-Sepsis-Gruppe; b = statistische Signifikanz ($p < 0.01$) zwischen Kontrollgruppe und Sepsis-Gruppe

Im Gegensatz zu den Parametern des Tryptophanstoffwechsels, zeigte sich für das C-reaktive Protein, als Marker des inflammatorischen Geschehens, nur an Tag 8 ein signifikanter Unterschied zwischen der Sepsis und der Nicht-Sepsis Gruppe ($p < 0.01$). Da in beiden Gruppen die Menge dieses Akut-Phase-Proteins in den ersten beiden Tagen enorm anstieg (Abbildung 5).

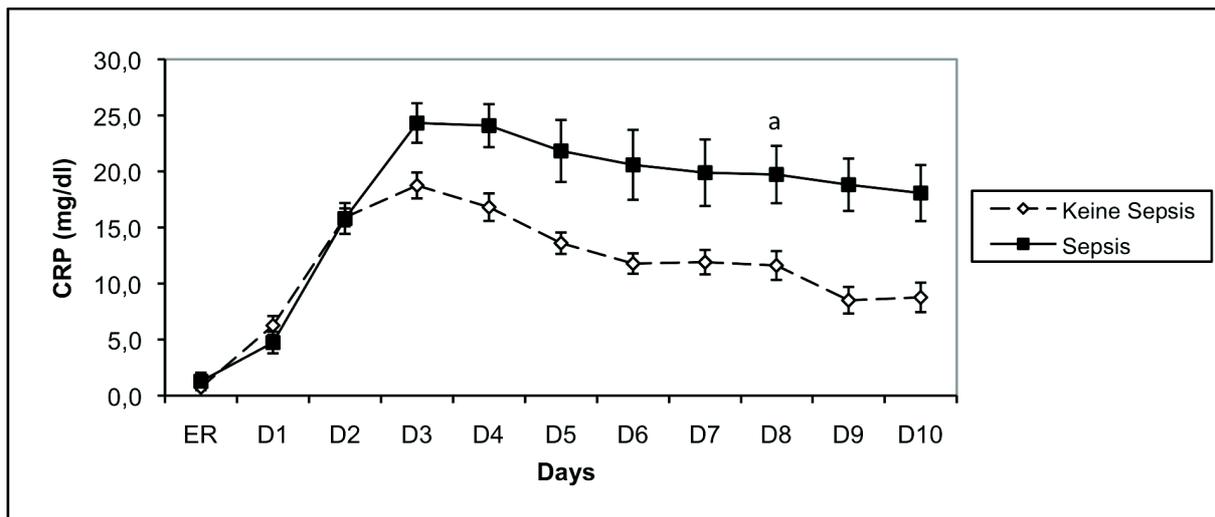


Abbildung 5: Serumkonzentrationen des C-reaktiven Proteins (CRP) bis Tag 10 nach Trauma;

Normwert des Zentrallabors der Universitätsklinik Düsseldorf < 1 mg/dl, Konzentrationen als Mittelwerte \pm SEM. ER = Schockraum. D1-D10 = Posttrauma Tag 1-10; a = statistische Signifikanz ($p < 0.01$) zwischen Sepsis und Nicht-Sepsis-Gruppe

Auch die klinische Evaluation mittels Erhebung des MODS Score erbrachte keinen signifikanten Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen, bei nur leicht erhöhten Werten bei der Sepsis Gruppe gegenüber der nicht-septischen Gruppe ($p > 0.01$) (Abbildung 6).

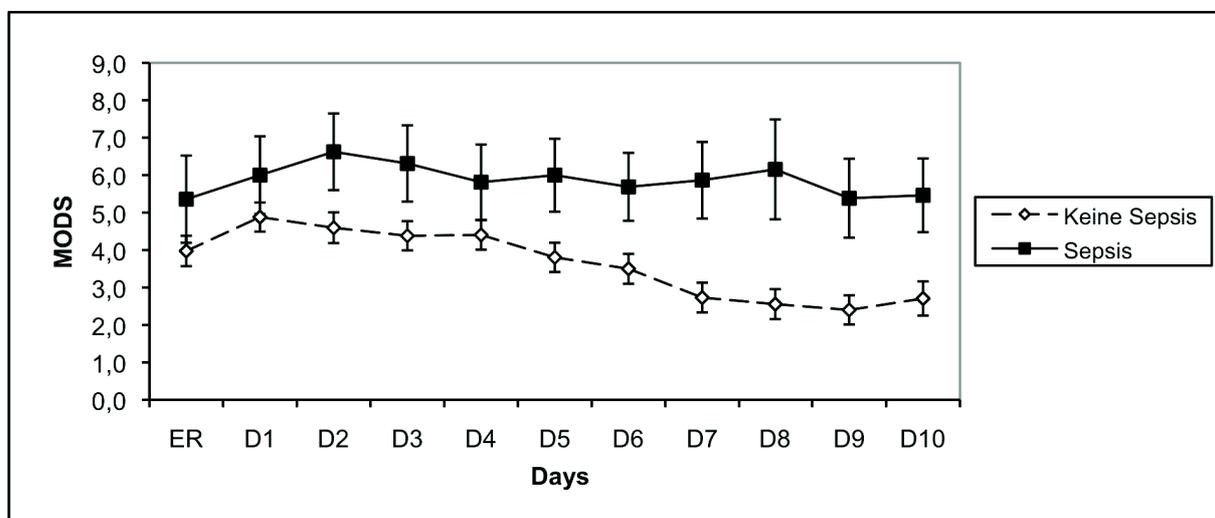


Abbildung 6: Multiple Organ Dysfunction Score (MODS) bis Tag 10 nach Trauma

Punktwerte als Mittelwerte \pm SEM. ER = Schockraum. D1-D10 = Posttrauma Tag 1-10

Verletzungsmuster

Neben der Frage nach den Unterschieden im Tryptophanstoffwechsel bei septischen und nicht-septischen Patienten, sollte auch näher untersucht werden, ob die Art der Verletzungen eine Rolle spielt. Verletzungen von Organen wie Lunge, Leber, Niere und Darm spielen im Rahmen der posttraumatischen Immunantwort eine wichtige Rolle [62, 63]. Aus diesem Grund wurden die Patienten in zwei Gruppen nach dem Verletzungsmuster in Thoracoabdominaltrauma und periphere Frakturen ohne Verletzungen des Körperstamms eingeteilt. Innerhalb dieser zwei Gruppen wurden die Patienten wieder in zwei Untergruppen, nämlich solche mit septischen und ohne septischen Verlauf unterteilt und die Verläufe von Tryptophan, Kynurenin und dem Kyn:Trpt Quotient beurteilt.

Abgesehen von den insgesamt erniedrigten Tryptophanwerten bei den polytraumatisierten Patienten gegenüber den gesunden Kontrollpersonen, wie oben beschrieben, ergaben sich bei den Tryptophankonzentrationen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen mit unterschiedlichen Verletzungen. Auch bei der Betrachtung der Sepsis und Nicht-Sepsis Untergruppen fielen im Hinblick auf das Tryptophan keine signifikanten Unterschiede auf (Abbildungen 7, 8).

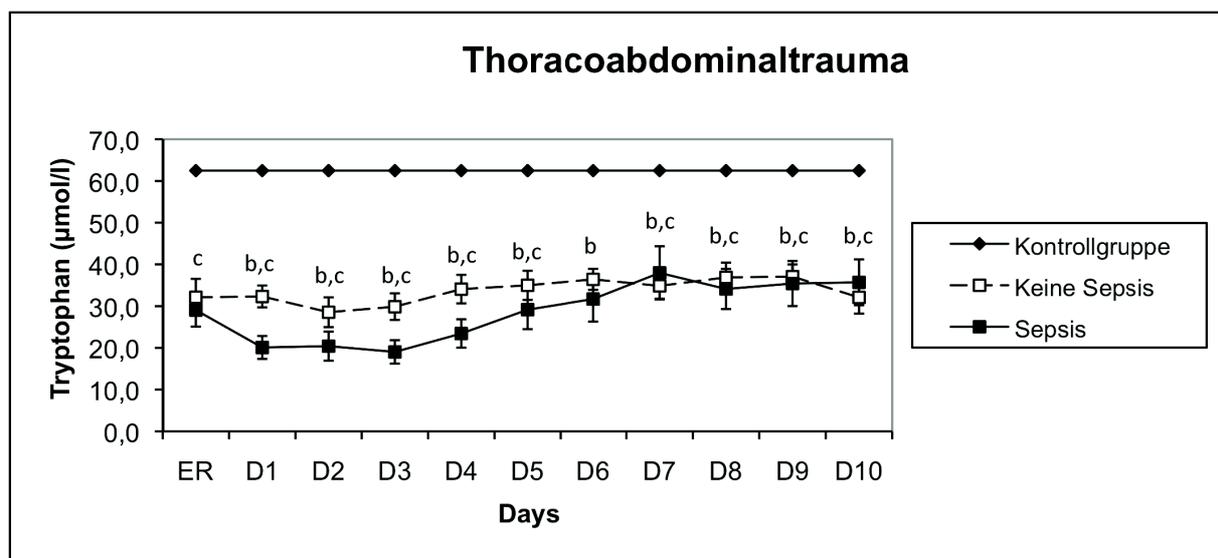


Abbildung 7: Serumtryptophankonzentrationen bei Patienten mit Thoracoabdominaltrauma bis Tag 10 nach Trauma

Konzentrationen als Mittelwerte \pm SEM. ER = Schockraum. D1-D10 = Posttrauma Tag 1-10;

b = statistische Signifikanz ($p < 0.01$) zwischen Kontrollgruppe und Sepsis-Gruppe; c = statistische Signifikanz ($p < 0.01$) zwischen Kontrollgruppe und Nicht-Sepsis-Gruppe

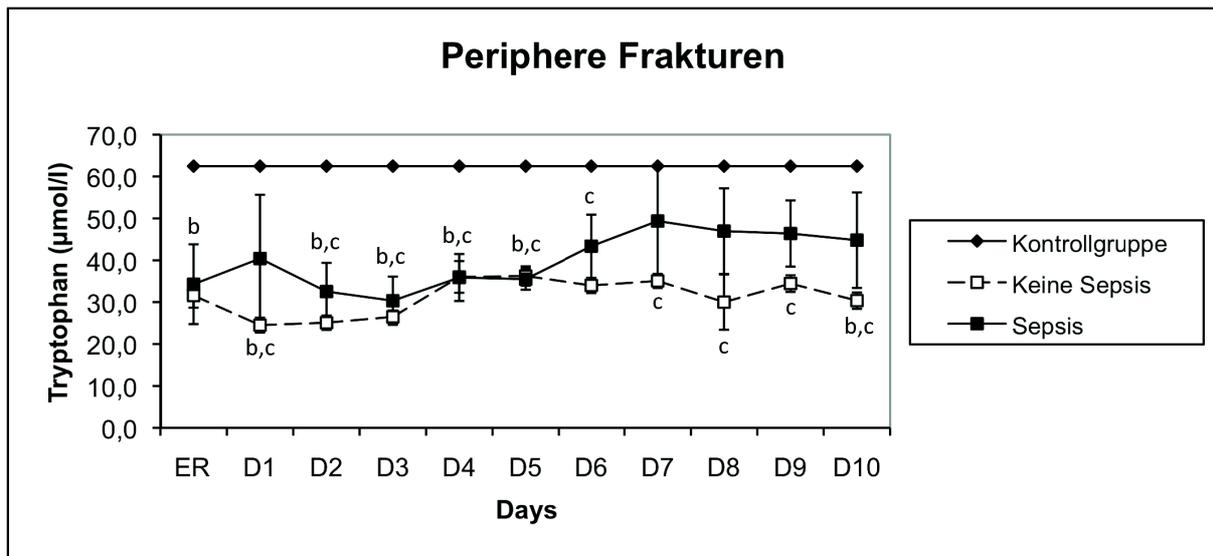


Abbildung 8: Serumtryptophankonzentrationen bei Patienten mit peripheren Frakturen bis Tag 10 nach Trauma

Konzentrationen als Mittelwerte \pm SEM. ER = Schockraum. D1-D10 = Posttrauma Tag 1-10

b = statistische Signifikanz ($p < 0.01$) zwischen Kontrollgruppe und Sepsis-Gruppe; c = statistische Signifikanz ($p < 0.01$) zwischen Kontrollgruppe und Nicht-Sepsis-Gruppe

Im Gegensatz zu den Tryptophanwerten konnten bei der Messung der Kynureninwerte in allen Gruppen Unterschiede zwischen der Nicht-Sepsis und der Sepsis Gruppe gesehen werden. Dabei waren die Werte der Nicht-Sepsis Patienten nahezu normal ($p > 0.01$). Den größten Anstieg der Kynureninkonzentration und die höchsten absoluten Kynureninwerte konnten bei den Patienten mit Thoracoabdominaltrauma und Sepsis im Verlauf bestimmt werden (Tag 7, 8.7 ± 1.5 $\mu\text{mol/l}$). Zusätzlich ergaben sich signifikante Unterschiede in der Gruppe mit Thoracoabdominaltrauma zwischen den septischen und nicht-septischen Patienten, sowie zwischen den septischen Patienten und der Kontrollgruppe für Tag 2 -10 ($p < 0.01$) (Abbildung 9).

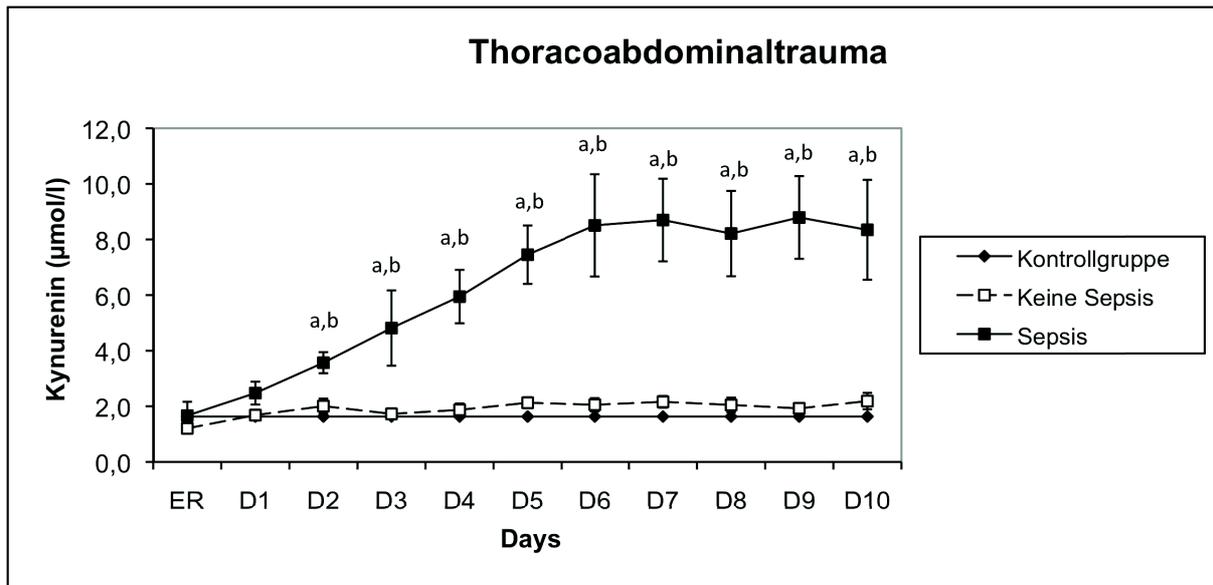


Abbildung 9: Serumkynureninkonzentrationen bei Patienten mit Thoracoabdominaltrauma bis Tag 10 nach Trauma

Konzentrationen als Mittelwerte \pm SEM. ER = Schockraum. D1-D10 = Posttrauma Tag 1-10

a = statistische Signifikanz ($p < 0.01$) zwischen Sepsis und Nicht-Sepsis-Gruppe; b = statistische Signifikanz ($p < 0.01$) zwischen Kontrollgruppe und Sepsis-Gruppe

In der Gruppe mit peripheren Frakturen ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Patienten mit septischem Verlauf und den Kontrollpersonen, sowie zwischen diesen Patienten und denen ohne später entwickelte Sepsis an den Tagen 2 - 4 und 6 – 10 ($p < 0.01$) (Abbildung 10).

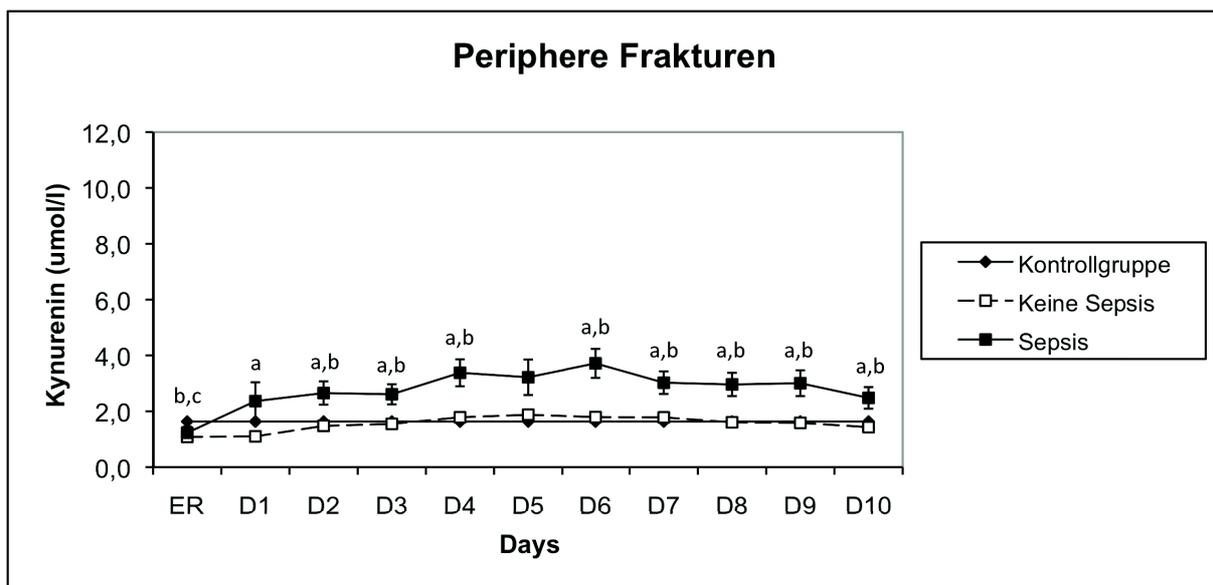


Abbildung 10: Serumkynureninkonzentrationen bei Patienten mit peripheren Frakturen bis Tag 10 nach Trauma

Konzentrationen als Mittelwerte \pm SEM. ER = Schockraum. D1-D10 = Posttrauma Tag 1-10

a = statistische Signifikanz ($p < 0.01$) zwischen Sepsis und Nicht-Sepsis-Gruppe; b = statistische Signifikanz ($p < 0.01$) zwischen Kontrollgruppe und Sepsis-Gruppe; c = statistische Signifikanz ($p < 0.01$) zwischen Kontrollgruppe und Nicht-Sepsis-Gruppe

Analog zu den Messergebnissen der Kynureninkonzentration wurde auch beim Kyn:Trpt Quotient der höchste Wert bei den Patienten mit Thoracoabdominaltrauma und Sepsis gemessen (Kyn:Trpt Quotient Tag 6, $0,276 \pm 0,04$). Dabei lagen die Werte der septischen Patienten mit diesem Verletzungsmuster zwischen Tag 1 – 10 signifikant über denen der Kontrollgruppe ($p < 0,01$; Tag 1, $0,15 \pm 0,03$). Darüber hinaus waren signifikante Unterschiede zwischen der septischen und nicht-septischen Gruppe mit Thoracoabdominaltrauma an Tag 2 – 10 messbar ($p < 0,01$) (Abbildung 11).

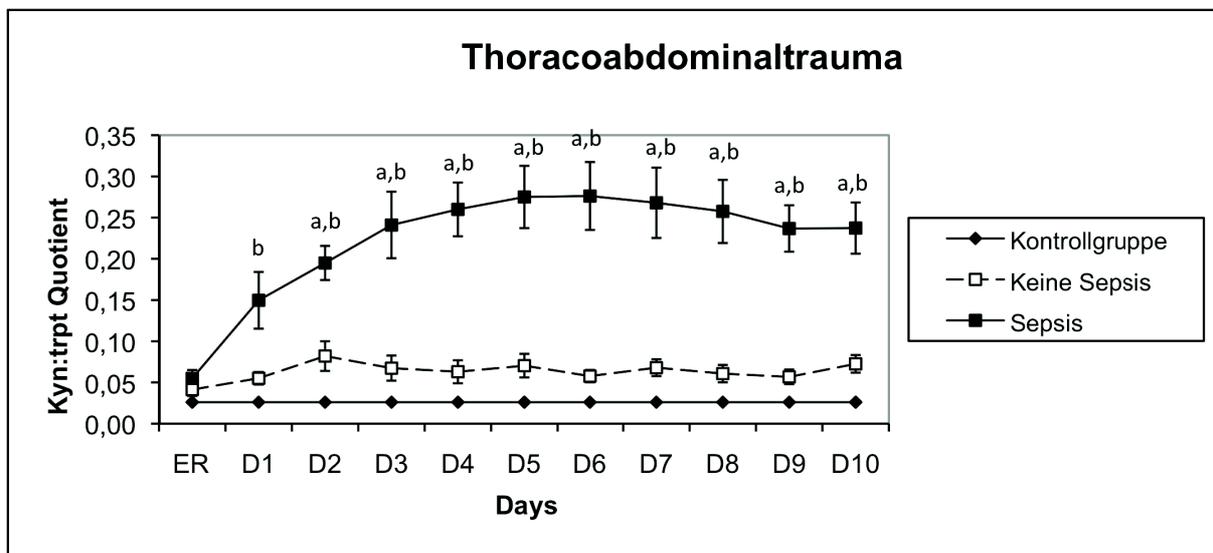


Abbildung 11: Kynurenin:Tryptophan Quotient bei Patienten mit Thoracoabdominaltrauma bis Tag 10 nach Trauma

Konzentrationen als Mittelwerte \pm SEM. ER = Schockraum. D1-D10 = Posttrauma Tag 1-10

a = statistische Signifikanz ($p < 0,01$) zwischen Sepsis und Nicht-Sepsis-Gruppe; b = statistische Signifikanz ($p < 0,01$) zwischen Kontrollgruppe und Sepsis-Gruppe;

Für die Patientengruppen mit peripheren Frakturen wurden an Tag 2 – 6 signifikant erhöhte Werte bei den septischen Patienten gegenüber den Patienten ohne septischen Verlauf und den Kontrollpersonen gemessen ($p < 0,01$) (Abbildung 12).

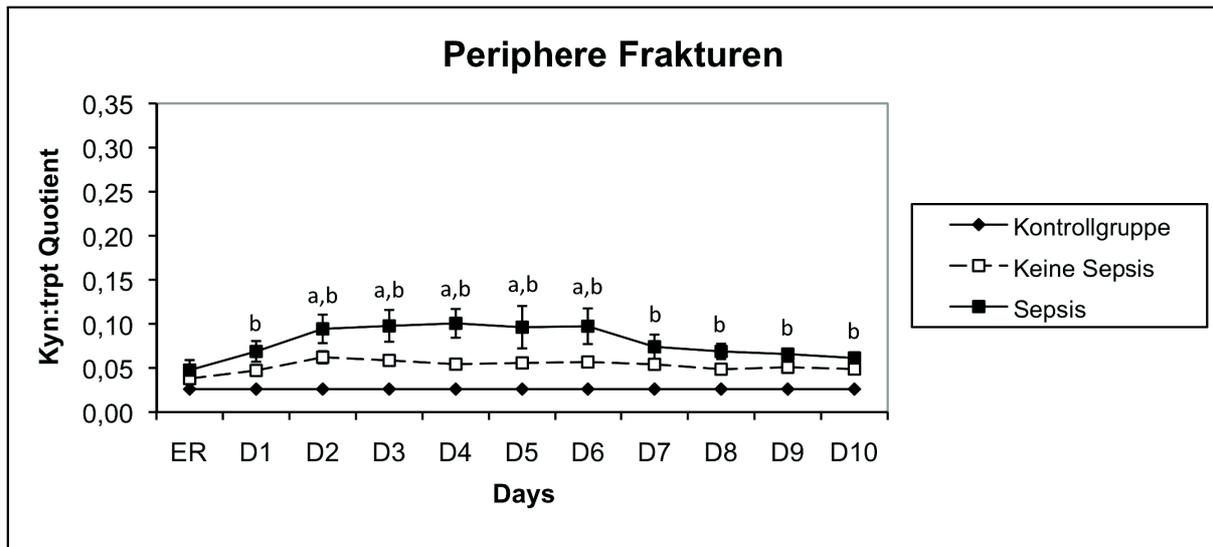


Abbildung 12: Kynurenin:Tryptopan Quotient bei Patienten mit peripheren Frakturen bis Tag 10 nach Trauma

Konzentrationen als Mittelwerte \pm SEM. ER = Schockraum. D1-D10 = Posttrauma Tag 1-10;

a = statistische Signifikanz ($p < 0.01$) zwischen Sepsis und Nicht-Sepsis-Gruppe; b = statistische Signifikanz ($p < 0.01$) zwischen Kontrollgruppe und Sepsis-Gruppe

Insgesamt waren in beiden Gruppen mit den verschiedenen Verletzungsmustern bei den Patienten ohne Entwicklung einer Sepsis im Vergleich zur Kontrollgruppe kein signifikanter Unterschied zu verzeichnen ($p > 0.01$) (Abbildung 11, 12).

Diagnostisches Potenzial

Neben der Erhebung der absoluten Werte der Tryptophan-, Kynureninkonzentrationen und Berechnung des Kyn:Trpt Quotienten sollte das diagnostische Potenzial des Kyn:Trpt Quotienten genauer evaluiert werden. Zu diesem Zweck wurden Receiver Operating Characteristic (ROC) – Kurven etabliert. Die beste Diskriminierung ergab sich bei einem Grenzwert von 0.08 mit guter Spezifität an allen Tagen und steigender Sensitivität mit Bestwerten an Tag 2 – 6 (Tabelle 4). Die Area under the curve (AUC) lag für alle Testwerte zusammen genommen bei 0.843 (Abbildung 13).

Grenzwert 0.08	ER	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	Alle
Sensitivität	0.17	0.59	0.82	0.88	0.88	0.82	0.82	0.76	0.76	0.65	0.65	0.73
Spezifität	0.94	0.95	0.86	0.91	0.91	0.86	0.86	0.84	0.88	0.91	0.91	0.89
Positiv prädiktiver Wert	0.50	0.83	0.70	0.79	0.79	0.70	0.70	0.65	0.72	0.73	0.73	0.73
Negativ prädiktiver Wert	0.77	0.85	0.93	0.95	0.95	0.93	0.93	0.90	0.90	0.87	0.87	0.89

Tabelle 4: Prädiktive Werte des Kynurenin:Tryptophan Quotienten für die Entwicklung einer Sepsis an den verschiedenen Tagen

ER = Schockraum. D1 – D10 = Posttrauma Tag 1 – 10.

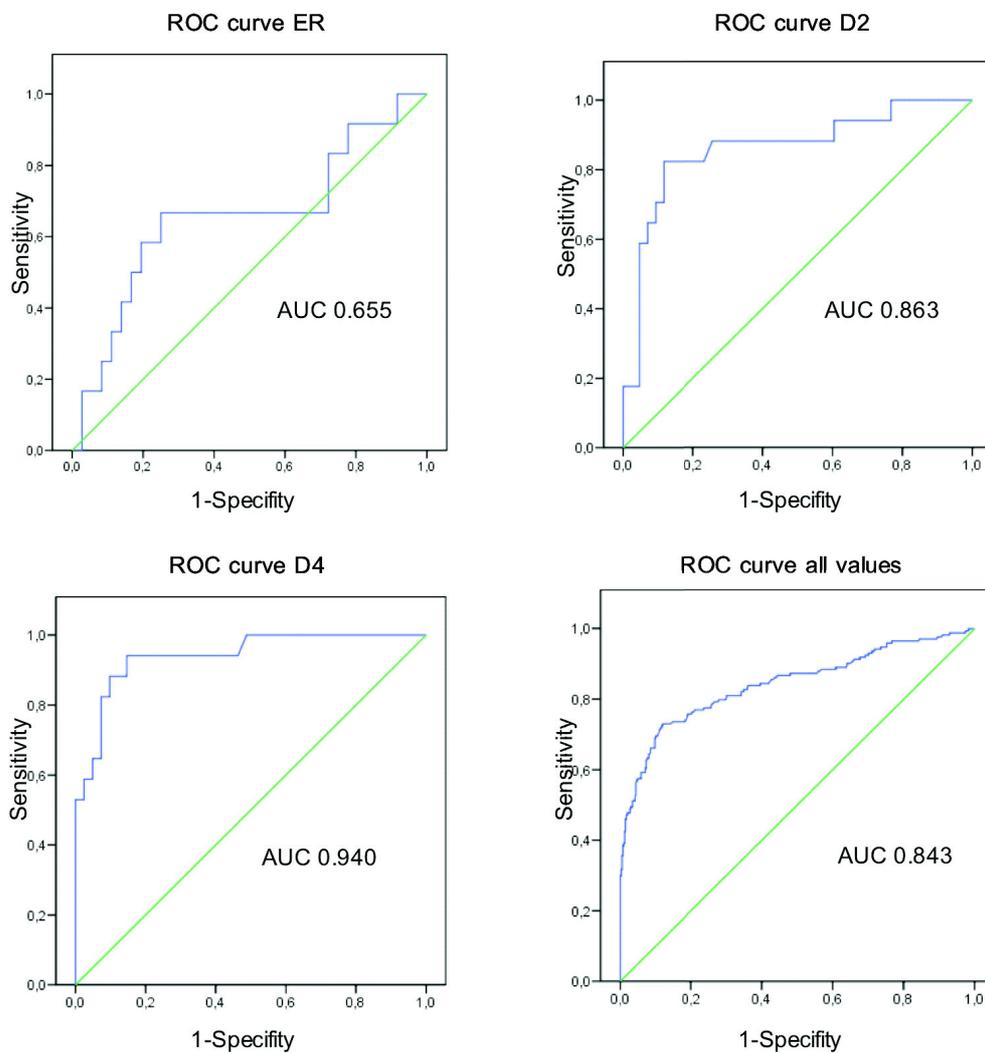


Abbildung 13: Receiver Operating Characteristic (ROC) Kurven

Tag der Aufnahme im Schockraum (ER), an Tag 2 (D2), an Tag 4 (D4) und von allen Werten des Kynurenin:Tryptophan Quotienten an allen Tagen. Area under the curve (AUC).

Zusammenfassung der Ergebnisse

Es konnten bei allen polytraumatisierten Patienten bereits im Schockraum erniedrigte Tryptophanspiegel nachgewiesen werden. Bei den Patienten, die im Verlauf eine Sepsis entwickelten, wurden ab dem ersten Tag nach dem Trauma erhöhte und immer weiter steigende Kynureninspiegel gemessen. Dabei ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen diesen Patienten und denen ohne Entwicklung septischer Komplikationen für die Tage 1-10. Besonders der Kyn:Trpt Quotient war in der Gruppe mit Entwicklung einer Sepsis signifikant höher als bei Normalpersonen und wich bereits am ersten Tag nach Trauma signifikant von den Werten nicht septischer Patienten ab. Mittels ROC-Kurven wurde zusätzlich der Vorhersagewert des Kyn:Trpt Quotienten errechnet. Hierbei zeigte sich bereits im Schockraum eine gute Aussagekraft.

Im Vergleich der Patienten mit und ohne Verletzung des Körperstammes zeigte sich kein signifikanter Unterschied bei den Tryptophanwerten, abgesehen von den Unterschieden auf Grund der septischen Komplikationen, wie bereits beschrieben. Bei den Kynureninwerten konnten deutliche Unterschiede in Bezug auf das Verletzungsmuster gesehen werden. Bei Patienten mit Thoracoabdominaltrauma war ein deutlich höherer Anstieg des Kynurenins im Vergleich zu Patienten mit peripheren Frakturen messbar. Analog zu den Messergebnissen der Kynureninkonzentration wurde auch beim Kyn:Trpt Quotient der höchste Wert bei den Patienten mit Thoracoabdominaltrauma und Sepsis gemessen.

4. Diskussion

In dieser Studie sollte die Rolle desIDO vermittelten Tryptophankatabolismus im Rahmen der posttraumatischen Entstehung von SIRS und Sepsis und die Wertigkeit der Parameter Tryptophan, Kynurenin und des Kynurenin:Tryptophan-Quotienten zur Früherkennung einer Sepsis untersucht werden. Schon in früheren Studien ist dieser Stoffwechselweg in unterschiedlichen klinischen Situationen mit T-Zell Anergie und Immundysregulation [6-10, 26] in Zusammenhang gebracht worden. Im Rahmen dieser Fehlregulation des Immunsystems wird der Mangel an der essentiellen Aminosäure Tryptophan für die ausbleibende Proliferation aktivierter Lymphozyten verantwortlich gemacht. Erst kürzlich konnte gezeigt werden, dass mit zunehmender Tryptophandepletion zunächst ein antimikrobieller Effekt und mit sinkender Tryptophankonzentration dann eine Inhibition der T-Zellen zu beobachten ist. Die daraus resultierende Immunmodulation wird als Schutz des eigenen Organismus vor einer überschießenden Immunantwort verstanden [40]. Diese T-Zell Anergie kann aber auch in einer nur ungenügenden Abwehr gegen lebensbedrohliche Pathogene, besonders bei Patienten nach Polytrauma, die ein erhöhtes Risiko haben eine SIRS oder Sepsis zu entwickeln, resultieren [8, 64, 65].

Patienten

Um diesen Sachverhalt näher zu untersuchen, wurden 60 Patienten, die mit der Diagnose Polytrauma in die Notaufnahme der Klinik für Unfall- und Handchirurgie der Universitätsklinik Düsseldorf aufgenommen wurden, in diese Studie eingeschlossen. Von der Studie ausgeschlossen wurden Patienten unter 18 Jahren, bei Eintritt des Todes innerhalb der ersten 24 Stunden nach Aufnahme sowie ein fehlendes Einverständnis zur Studienteilnahme. Das Einverständnis wurde, mit Erlaubnis der Ethikkommission der Universität Düsseldorf, am ersten Tag nach dem Trauma oder unmittelbar nach Wiedererlangen des Bewusstseins eingeholt. Bei Patienten, die im gesamten Zeitraum das Bewusstsein nicht wiedererlangten gaben die Angehörigen die Einwilligung. Durch die Auswahl nur weniger Ausschlusskriterien ergab sich eine Zusammensetzung des Kollektivs aus allen Altersklassen und beiden Geschlechtern.

In der aktuellen Literatur werden das Alter und auch die Verletzungsschwere als prognostische Faktoren bezüglich der Morbidität und Letalität nach Polytrauma angesehen [66-68]. Auch in diesem Kollektiv lag das durchschnittliche Alter der Patienten mit septischem Verlauf mit 54.4 ± 4.5 Jahren höher als in der Gruppe ohne Sepsis mit 42.4 ± 2.9 Jahren. Zusätzlich unterschied sich auch die Verletzungsschwere der beiden Gruppen. Dabei lag der Injury Severity Score (ISS) der Gruppe mit septischem Verlauf bei 36.1 ± 2.1 und der Score der nicht-septischen Patienten mit 28.8 ± 1.7 deutlich darunter. Somit lassen sich die in großen Studien ermittelten Faktoren auch auf das hier untersuchte Patientenkollektiv anwenden.

Darüber hinaus kommen auch die epidemiologischen Unterschiede, die beim Polytrauma in Bezug auf das Geschlecht beobachtet werden in diesem Kollektiv mit insgesamt dreimal mehr Männern als Frauen zum tragen [69]. Diese Verteilung ist im Hinblick auf die Mortalitätsrate wichtig, da sich bei den Geschlechtern Unterschiede ergeben. So konnten Studien eine geringere Letalität und Morbidität nach Polytrauma für weibliche gegenüber männlichen Patienten gleichen Alters zeigen [70]. Auch in diesem Kollektiv entwickelten von 45 Männern 15 (33,3%) und von 15 polytraumatisierten Frauen nur zwei (13,3%) eine Sepsis. Die Ursachen für diese Unterschiede sind bislang noch nicht vollständig geklärt. Es wird der schützende Einfluss von Östrogenen bei der Entwicklung einer Sepsis und eines Multiorganversagens diskutiert [70, 71]. Aus dieser Beobachtung haben sich bereits therapeutische Ansätze entwickelt, Patienten nach Trauma mit Östrogenen zu behandeln um das Ausmaß der Inflammation zu reduzieren [72]. Angesichts der zirkadianen Östrogenspiegel bei Frauen vor Beginn der Menopause sind jedoch noch keine Behandlungsstrategien mit Östrogenen in den klinischen Alltag integriert. Hier müssten weitergehende Studien prüfen, ob die Behandlungsansätze in die Routineversorgung polytraumatisierter Patienten Einzug finden sollten.

Ein wichtiges Ausschlusskriterium für diese Studie war der Eintritt des Todes innerhalb der ersten 24 Stunden. Der frühe Todeszeitpunkt musste aus mehreren Gründen mit berücksichtigt werden. Zum einen sind gerade in der frühen Phase nach dem Trauma mehrere aufeinander folgende Werte für die Beurteilung der Dynamik der zu untersuchenden Parameter besonders wichtig. Darüber hinaus werden für das Versterben innerhalb der ersten 24 Stunden Faktoren wie Hypoxie, Hypovolämie

oder ein sehr schweres Schädel-Hirn-Trauma verantwortlich gemacht, die hier nicht untersucht werden sollten [73-76]. Retrospektiv überlebten alle in die Studie eingeschlossenen Patienten über die ersten 24 Stunden hinaus den gesamten Beobachtungszeitraum von zehn Tagen.

Dieser Zeitraum wurde gewählt um die antiinflammatorische Gegenregulation des Körpers nach einem Trauma zu erfassen. Diese Phase der Immunsuppression schließt sich an das Stadium der Hyperinflammation an. Die Dauer und Ausprägung des proinflammatorischen Geschehens ist nicht nur vom Trauma selbst sondern auch von iatrogenen Faktoren abhängig. So stellt auch ein operativer Eingriff einen starken inflammatorischen Stimulus dar [46, 77-81]. So konnten nach chirurgischen Maßnahmen erhöhte Interleukin-6 Konzentrationen als Zeichen eines inflammatorischen Geschehens gemessen werden [77]. Doch auch antiinflammatorische Parameter, wie das Interleukin-10 stiegen nach operativer Versorgung von Verletzungen messbar an [46].

Alle Patienten dieses Kollektivs wurden innerhalb der ersten vier Tage nach dem Trauma, die meisten (54/60 Patienten) direkt am Unfalltag operativ versorgt, so dass ein „zweites Trauma“ zu Beginn des Beobachtungszeitraumes auf die Patienten einwirkte. Die Sepsis trat im Mittel nach 9,4 Tagen mit einer Zeitspanne zwischen 4 und 21 Tage nach dem Unfall auf. Nach einem schweren Trauma kann es bei den Patienten zur Entwicklung einer frühen oder späten Sepsis kommen. Aus Gründen der Fallzahlen wurde in dieser Studie nicht zwischen diesen beiden Formen unterschieden. In weiteren Studien innerhalb dieser Fragestellung durch die Arbeitsgruppe sollen in Zukunft lediglich Patienten untersucht werden, die eine Sepsis innerhalb des laborchemisch ausgewerteten Zeitraums entwickeln.

Wichtig für die Prognose des Patienten und die Entwicklung eines Multiorganversagens ist die zu jeder Zeit ausgeglichene Balance der verschiedenen pro- und anti-inflammatorischen Mediatoren [71, 82-84]. Es ist daher möglich, dass der Körper zunächst in der Lage ist den inflammatorischen Stimulus des Traumas zu kompensieren und erst spätere Einwirkungen, allgemein als „second hit“ bezeichnete Ereignisse, zu einer Imbalance und damit einer Verschlechterung der Prognose führen.

Die erste Blutabnahme erfolgte bereits im Schockraum mittels eines speziell entwickelten Polytrauma-Blutabnahmesets. Lackner et al konnten in ihrer Studie zeigen, dass die im Schockraum erhobenen Parameter im Vergleich zu anderen Abnahmezeitpunkten im Bezug auf die Prognose einen sehr guten prädiktiven Wert aufweisen [85]. Deshalb wurde auf diese Probe gesteigerten Wert gelegt. Aus dieser ersten Probe wurden einige Routineparameter wie der Quick-Wert und der Base-excess bestimmt. Wie in der Studie der Arbeitsgruppe um Lackner fielen auch im vorliegenden Kollektiv in der Gruppe mit septischem Verlauf bereits im Schockraum erniedrigte Quick-Werte sowie ein erhöhter Base-Excess auf [85]. Bei allen Patienten mit letalem Verlauf wurde bereits im Schockraum ein Quick-Wert unter 70% und ein Base-Excess von weniger als -3.0 mM gemessen. Der Quick-Wert unterschied sich dabei signifikant zwischen der Sepsis und der Nicht-Sepsis Gruppe. In der Studie von Raum et al konnte der Quick Wert im Schockraum als guter Prognosefaktor für Letalität und Morbidität identifiziert werden. Auch zwischen einem erhöhten Base excess im Schockraum und der Letalität zeigte sich eine sehr gute Korrelation [86, 87].

Tryptophan und Kynurenin

Neben der frühen Bestimmung einiger Routinelaborparameter ermöglichte die Blutabnahme im Schockraum auch eine sehr frühe Bestimmung des Tryptophanhaushaltes nach dem Trauma. Aus den Werten der gesunden Kontrollpersonen wurden Normwerte definiert. Dies ist ein gängiges Vorgehen in der Generierung eines Kontrollkollektivs. Bereits im Schockraum von dieser Norm abweichende Tryptophankonzentrationen wurden als Traumafolge gewertet. Eventuell bereits vor dem Trauma bestehende individuell abweichende Tryptophanwerte konnten nicht berücksichtigt werden. Alle Patienten waren zum Aufnahmezeitpunkt in einem guten Ernährungszustand und zeigten keinen Anhalt für eine Mangelversorgung. Während der intensivmedizinischen Behandlung wurden alle Patienten inklusive Substitution aller essentiellen Aminosäuren standardisiert ernährt. Daher wurden die erniedrigten Tryptophanspiegel nicht als nutritiv

verursacht, sondern als Folge eines erhöhten Katabolismus nach dem Trauma gewertet.

Als essentielle Aminosäure kann der Körper Tryptophan nicht de-novo synthetisieren, daher wurde bei allen Patienten auf eine ausreichende Zufuhr geachtet. Patienten, die parenteral ernährt wurden, erhielten Aminosteril, das mit 1g Tryptophan, den Tagesbedarf nach den Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Ernährung deckt. Somit konnten die erniedrigten Tryptophanmengen nicht auf mangelnde Zufuhr, sondern auf einen veränderten Metabolismus zurückgeführt werden.

Die Messung der Tryptophanmenge und seiner Abbauprodukte wurde mittels High Performance Liquid Chromatography (HPLC) durchgeführt. Dieses Verfahren ermöglicht es auf Grund seiner Empfindlichkeit die Konzentrationen und deren Veränderung sehr exakt zu bestimmen [88].

Der größte Anteil des Tryptophans wird über den Kynureninweg mittels der Indoleamin-2,3-Dioxygenase verstoffwechselt. Für das Hauptabbauprodukt, das Kynurenin, konnte gezeigt werden, dass es direkte Organschäden verursacht [10, 41-43, 89]. Daher wurde nicht nur die Tryptophan-, sondern darüber hinaus auch die Kynureninkonzentration im Blut von polytraumatisierten Patienten und der daraus zu errechnenden Kynurenin:Tryptophan-Quotient untersucht.

Dabei zeigen die vorliegenden Daten von 60 Patienten mit einem ISS >16 einen deutlichen Abfall des Serumtryptophanspiegels bei polytraumatisierten Patienten mit Sepsis $30.8 \pm 4.3 \mu\text{mol/l}$ und Nicht-Sepsis $31.4 \pm 2.3 \mu\text{mol/l}$ gegenüber gesunden Personen $62.5 \pm 2.9 \mu\text{mol/l}$ bereits im Schockraum. Pellegrin et al berichteten bereits von ähnlichen Ergebnissen mit 37 Patienten nach Polytrauma [4].

Bei dem nun untersuchten Patientenkollektiv zeigte sich im Schockraum bei den Patienten, die später eine Sepsis entwickelten, ein noch normwertiges Kynurenin $1.42 \pm 0.26 \mu\text{mol/l}$ (Kontrollgruppe $1.63 \pm 0.09 \mu\text{mol/l}$; $p > 0.01$). In der Gruppe von Patienten, die keinen septischen Verlauf hatten, konnten im Schockraum neben erniedrigten Tryptophankonzentrationen auch erniedrigte Kynureninwerte bestimmt

werden $1.10 \pm 0.08 \mu\text{mol/l}$ ($p < 0.01$). Hier muss über eine eventuell iatrogen bedingte Veränderung dieser Parameter diskutiert werden, welche beispielsweise im Rahmen einer Verdünnung durch Volumenzufuhr denkbar wäre. Auch bei den im Verlauf septischen Patienten steht die Veränderung der Konzentrationen durch iatrogene Maßnahmen zur Diskussion. Doch macht hier eine gegensinnige Veränderung der Parameter des Tryptophanstoffwechsels eine Verdünnung als Begründung der erniedrigten Tryptophanwerte eher unwahrscheinlich.

Neben den Kynureninwerten war in der Schockraumprobe auch das C-reaktive Protein normwertig. Im Verlauf konnte bei den Patienten, die später eine Sepsis bekamen, ein simultaner Anstieg von Kynurenin und dem C-reaktiven Protein (CRP), einem anerkannten Inflammationsmarker, beobachtet werden. Daraus folgend wäre es möglich, dass die Stimulation des Kynureninwegs Folge der Inflammation ist. Allerdings kann nicht sicher unterschieden werden, ob der Anstieg von Kynurenin und seinen Metaboliten dabei ein pathogenetischer Faktor oder nur eine zufällige Begleiterscheinung ist. Eine genauere Untersuchung dieses Zusammenhangs erscheint daher nach den Ergebnissen dieser Studie besonders sinnvoll.

Wie das CRP und der MODS steigen auch das Kynurenin und der Kyn:Trpt Quotient in den ersten Tagen nach Trauma deutlich an. Allerdings konnte in mehreren Studien für das CRP kein nennenswerter prädiktiver Wert für das Auftreten septischer Komplikationen nach Polytrauma gezeigt werden [90, 91]. Auch im vorliegenden Kollektiv ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen dem CRP-Anstieg der Sepsis und der Nicht-Sepsis Gruppe (Tag 3 höchster Anstieg: Sepsis $24.3 \pm 1.8 \text{ mg/dl}$; Nicht-Sepsis $18.7 \pm 1.2 \text{ mg/dl}$; $p > 0.01$). Der zusätzlich ermittelte MODS war zwar in der Sepsis Gruppe leicht erhöht, wich aber nicht signifikant von den Punktwerten der Nicht-Sepsis Gruppe ab.

Im Gegensatz dazu unterscheiden sich die Höhe des Kynurenin und des Kyn:Trpt Quotienten bei den Patienten mit und ohne septischen Verlauf schon sehr früh (Tag 1: Sepsis $2.3 \pm 0.3 \mu\text{mol/l}$ und Nicht-Sepsis $1.2 \pm 0.08 \mu\text{mol/l}$; $p < 0.01$). Auf Grund dieser Beobachtung wurde nicht nur analysiert wie gut diese Parameter mit dem weiteren Verlauf, also der Entwicklung einer Sepsis und einem Multiorganversagen, korrelieren, sondern auch ob sie als prognostische Marker genutzt werden könnten.

Das frühe Erkennen von Sepsis und Multiorganversagen wird nicht nur im Bezug auf die Senkung der Morbidität und Mortalität der Patienten, sondern auch bei der Betrachtung unter betriebswirtschaftlichen Aspekten immer wichtiger. Denn neben dem individuellen Verlauf eines einzelnen Patienten, stellt auch die Verursachung von Kosten, welche der Patient im Rahmen seines klinischen Verlaufes verursacht ein immer wichtiger werdendes Problem dar. Ein Marker, welcher frühzeitig eine zuverlässige Einschätzung von Prognose und ggf. durch entsprechende präventivmedizinische Maßnahmen vermeidbare Verlauf erlauben würde, wäre daher sowohl in individualmedizinischer wie in sozioökonomischer Hinsicht sinnvoll.

Tatsächlich war der Kyn:Trpt Quotient schon im Schockraum bei Patienten, die später eine Sepsis entwickelten, erhöht und unterschied sich ab dem ersten Tag nach Trauma signifikant von denen die keinen septischen Verlauf hatten (Tag 1: Sepsis 0.11 ± 0.19 und Nicht-Sepsis 0.05 ± 0.003 ; $p < 0.01$).

Sepsis und Nicht-Sepsis

Nach Messung erniedrigter Tryptophankonzentrationen beim untersuchten Patientenkollektiv, stellte sich die Frage, ob dieser Parameter zwischen Patienten mit septischem Verlauf und diesen ohne unterscheiden kann.

Im Gegensatz zu der Arbeitsgruppe um Pellegrin konnte in dieser Studie kein signifikanter Unterschied zwischen den Tryptophanspiegeln dieser beiden Patientengruppen gefunden werden (Sepsis $30.8 \pm 4.3 \mu\text{mol/l}$ und Nicht-Sepsis $31.4 \pm 2.3 \mu\text{mol/l}$; $p > 0.01$). Bisher machte eine Theorie die Tryptophandepletion nach Polytrauma allein verantwortlich für die Entwicklung einer Sepsis [4, 92].

Im Rahmen der posttraumatischen Inflammation kommt es zu einer erhöhten IFN- γ Aktivität und damit zu einer Aktivierung derIDO. Da dieser Zusammenhang bereits Inhalt mehrerer Studien war [30, 93-95], wurde auf eine Messung des IFN- γ im Rahmen dieser Studie bewusst verzichtet. Ziel aktueller Arbeiten unserer Forschungsgruppe ist die Identifizierung von Zellen der Immunantwort, in denen die Aktivierung dieses Enzyms stattfindet. Insbesondere auf Grund der

posttraumatischen Hyperaktivität der neutrophilen Granulozyten [96], wäre es möglich, dass diese Zellen eine erhöhteIDO Aktivität aufweisen. EineIDO Expression in neutrophilen Granulozyten konnte jedoch bisher weder in vitro noch in vivo nachgewiesen werden.

Ein Zusammenhang zwischen Tryptophanmetabolismus und inflammatorischer Antwort konnte bisher schon für verschiedene Krankheiten nachgewiesen werden [6-10, 26]. Trotzdem wurde bisher noch nicht von einer Korrelation zwischen den Tryptophanmetaboliten, wie zum Beispiel L-Kynurenin, 3-Hydroxykynurenin oder Chinolat, und der posttraumatischen Entstehung von Organversagen berichtet. Durch die posttraumatische Stimulation des Tryptophan katalysierenden EnzymsIDO kommt es nicht nur zur Tryptophandepletion, sondern gleichzeitig auch zu steigenden Kynureninkonzentrationen. Diese erhöhten Kynureninspiegel könnten über eine Inhibition der T-Zellen ein wesentlicher pathogenetischer Faktor [40, 97-99] für das frühe Auftreten von Organversagen und SIRS sein. Bereits bei malignen Erkrankungen konnte eine Korrelation für dieIDO Aktivität und das Outcome der Patienten gezeigt werden [100, 101].

Die Ergebnisse dieser Studie unterstützen nun diesen komplexeren Zusammenhang des Tryptophanstoffwechsels und der Morbidität der Patienten. Denn obwohl keine signifikanten Unterschiede bei den Tryptophankonzentrationen zwischen den Patienten mit Sepsis und ohne gemessen werden konnten, zeigten sich bei den Kynureninspiegeln schon früh Differenzen. Diese signifikanten Differenzen waren über den gesamten Beobachtungszeitraum von zehn Tagen messbar (Sepsis Tag 3, $3.51 \pm 0.7 \mu\text{mol/l}$; Tag 6, $5.88 \pm 1.06 \mu\text{mol/l}$ und Nicht-Sepsis Tag 3, $1.54 \pm 0.1 \mu\text{mol/l}$; Tag 6, $1.82 \pm 0.09 \mu\text{mol/l}$; Tage 1-10 $p < 0.01$). Somit muss davon ausgegangen werden, dass sich nicht die absolute Tryptophanmenge, sondern viel mehr der Abbau über den Kynureninweg bei den septischen Patienten verändert.

Der Hauptmetabolit in diesem Abbauweg, das L-Kynurenin, war nämlich bereits am ersten Tag nach dem Trauma signifikant bei Patienten, die im Verlauf eine Sepsis entwickelten, erhöht (Tag 1: Sepsis $2.3 \pm 0.3 \mu\text{mol/l}$, Kontrollgruppe $1.63 \pm 0.09 \mu\text{mol/l}$). Hingegen konnten Pellegrin et al einen signifikanten Unterschied erst ab dem vierten Tag nach Trauma messen [4]. Auch der Kyn:Trpt Quotient, als Maß für

den IDO vermittelten Tryptophanabbau, differierte bei den beiden Gruppen in unserer Studie bereits im Schockraum. Über den gesamten Beobachtungszeitraum konnte ein signifikanter Unterschied zwischen Patienten, die im Verlauf eine Sepsis entwickelten, und diesen, die keine entwickelten, gesehen werden (Sepsis Tag 3: 0.17 ± 0.03 , Tag 6: 0.22 ± 0.03 , Nicht-Sepsis Tag 3: 0.06 ± 0.01 , Tag 6: 0.06 ± 0.003). Dabei wichen die Werte der nicht septischen Patienten nie deutlich von der Kontrollgruppe ab (0.03 ± 0.001). Dies könnte ein Hinweis dafür sein, dass das Gleichgewicht des Tryptophanstoffwechsels insgesamt bei den Patienten ohne septischen Verlauf nahezu unbeeinträchtigt blieb.

Somit kommt neben der lange diskutierten Tryptophandepletion ein anderer Aspekt für die Morbidität nach Polytrauma hinzu, nämlich die direkte Wirkung von L-Kynurenin und seinen Abbauprodukten auf den Organismus. Für das L-Kynurenin und seine Metabolite, das Chinolat und das 3-Hydroxykynurenin konnten direkte gewebe- und organschädigende Effekte nachgewiesen werden [10, 41-43].

Besonders das Chinolat scheint in der Pathogenese einiger Hirnerkrankungen wie z.B. Alzheimer als Neurotoxin eine wichtige Rolle zu spielen und wird auch mit den neurologischen Veränderungen im Rahmen des Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS) in Zusammenhang gebracht [102-105].

Die Arbeitsgruppe um Mackay konnte bei Patienten mit schwerem Schädel-Hirn Trauma noch Jahre nach dem Ereignis einen erhöhten Tryptophankatabolismus über den Kynureninweg nachweisen. Sie gehen davon aus, dass die so entstandenen Metabolite für die anhaltende cerebrale Dysfunktion, die bei diesen Patienten beobachtet werden kann, verantwortlich sind [89].

Neben den Effekten auf das zentrale Nervensystem werden auch Auswirkungen verschiedener Metabolite des Kynurenins auf die renale Funktion diskutiert. So führen erhöhte Serumspiegel der Kynureninmetabolite zu mesangialer Dysfunktion und könnten für das Fortschreiten chronischer Nierenerkrankungen mitverantwortlich sein [106].

Verletzungsmuster

Diese direkten Schäden durch Kynurenin und seine Metabolite könnten neben der Immunfehlregulation maßgeblich an der posttraumatischen Morbidität und Mortalität der Patienten beteiligt sein. In Hinblick auf diese direkten Organschäden könnten auch die unterschiedlichen Verletzungsmuster eine bedeutende Rolle spielen. Doch insbesondere der Zusammenhang zwischen einem veränderten Tryptophanstoffwechsel und der Art des Verletzungsmusters nach Polytrauma ist bisher nicht untersucht worden.

Daher wurde in dieser Studie zusätzlich die Korrelation zwischen unterschiedlichen Organschäden und der Höhe der posttraumatischen Kynureninspiegel untersucht. Hier zeigten Patienten mit Thoracoabdominaltrauma die höchsten Werte im Verlauf (Körperstamm und Sepsis $8.79 \pm 1.5 \mu\text{mol/l}$).

Neben der Art des Traumas hängt das Ausmaß der immunologischen Antwort nach einem schweren Trauma vom Grad der Gewebeschäden ab [107, 108], und könnte entscheidend für die Entstehung eines immunologischen Second-Hit bei Patienten sein [96, 109]. So konnten Seitz et al zeigen, dass die posttraumatische Infiltration des betroffenen Organs durch aktivierte neutrophile Granulozyten (PMN) maßgeblich für die immunologische Antwort nach stumpfem Thoraxtrauma verantwortlich ist [110]. In diesem Zusammenhang untersucht die Arbeitsgruppe Scholz et al seit längerem die Mechanismen der Aktivierung der PMN im Rahmen von operativen Eingriffen und nach Trauma [111, 112]. Dabei steht die Entwicklung von Maßnahmen zur Inhibition dieser Zellen und damit Regulation der Inflammation im Vordergrund [113-119].

In der vorliegenden Studie fanden sich bei Patienten mit Thoracoabdominaltrauma höhere Kynureninspiegel als bei Patienten mit peripheren Frakturen ohne Verletzung des Körperstammes. Auch der Kyn:Trpt Quotient erreichte bei den Patienten mit Thoracoabdominaltrauma die höchsten Werte. In dieser Untergruppe konnte dieser Quotient zwischen Tag 2 und 10 signifikant zwischen den Patienten mit septischem und nicht septischem Verlauf unterscheiden.

Neben der IFN- γ abhängigen IDO Expression in Zellen des angeborenen und erworbenen Immunsystems, wird dieses Enzym auch in vielen Zellen verschiedener Organe, wie zum Beispiel der Lunge, des Darms und der Leber exprimiert [62].

Iwamoto et al konnten kürzlich im Tiermodell zeigen, dass Hepatozyten den Tryptophankatabolismus im Rahmen der Inflammation steigern können und es so zu einem lokalen Anstieg von Kynurenin und seinen Metaboliten kommt [120].

Dies unterstützt die These, dass bei den polytraumatisierten Patienten die Schädigung eines Organs direkt zur IDO Expression der Zellen des betroffenen Gewebes und im Verlauf zur Induktion des Tryptophankatabolismus führt.

Für diesen Zusammenhang sprechen auch die Messungen größerer Konzentrationen von Kynurenin in Zellkulturen nach IDO Stimulation [40]. In Zusammenschau dieser Ergebnisse wäre es besonders interessant die Bestimmung von Tryptophan und seinen Metaboliten in Geweben mit der Messung im Serum zu vergleichen. In der klinischen Anwendung wäre eine Materialgewinnung beispielsweise über eine Bronchioalveoläre Lavage denkbar, da ein großer Teil der polytraumatisierten Patienten im Verlauf ein ARDS (Acute Respiratory Distress Syndrome) entwickelt [121].

Diagnostisches Potenzial

Zur Verbesserung der Versorgung polytraumatisierter Patienten kommt frühen Prognosemarkern zunehmend Bedeutung zu. Die Möglichkeit schnell nach dem Trauma Patienten mit hohem Risiko für die Entwicklung eines septischen Verlaufes von denen mit geringerem Risiko zu unterscheiden, könnte in Hinblick auf die Optimierung von individuellen Therapiekonzepten ein wichtiger Bestandteil in der Versorgung polytraumatisierter Patienten sein. Für diese frühe Therapieplanung rücken besonders Parameter, die bereits im Schockraum eine Prognoseaussage erlauben, immer mehr in den Mittelpunkt [85]. Daher liegt das Interesse der Forschungsgruppe an der Identifizierung von Parametern des Immunsystems, die in der Routineversorgung einsetzbar sind und eine möglichst frühe Aussage über den posttraumatischen Verlauf erlauben [112, 122-124].

Unter diesem Aspekt wurde das diagnostische Potenzial des Kyn:Trpt Quotienten mittels Receiver Operating Characteristics (ROC) Kurven und Quantifizierung der Area under the Curve (AUC) genauer betrachtet. Hierbei ließ sich für diesen Parameter im Schockraum ein Wert von 0.66 ermitteln. In einer Analyse des Traumaregisters von 17.200 Patienten konnten Raum et al für Prognosemarker wie das Alter und den Base excess AUC-Werte von 0.63 (Alter) und 0.67 (BE) ermitteln. Die Werte für den Quick-Wert (0.70) und den GCS (0.73) im Schockraum waren etwas höher und erlaubten damit eine noch genauere Prognose [125].

Doch die vorliegenden Daten zeigen, dass der Kyn:Trpt Quotient schon zu einem frühen Zeitpunkt gerade im Vergleich zu anerkannten Parametern eine gute Aussage über die Prognose erlaubt. Hier wäre eine Vereinfachung der Bestimmung des Kyn:Trpt Quotienten für den Routineeinsatz notwendig, da die Messung mittels HPLC kosten- und zeitaufwendig ist. An der Optimierung dieses sehr präzisen Verfahrens für den Routineeinsatz wird fortwährend gearbeitet [126]. Zwar ermöglichen anerkannten Parameter wie das Alter und der BE bereits heute eine Identifizierung von Patienten mit hohem Letalitätsrisiko, doch gibt der Kyn:Trypt Quotient darüber hinaus einen genaueren Hinweis zur Art des Risikos nämlich septischen Komplikationen. Somit könnten bei derart ermittelten Risikopatienten gezielte Maßnahmen zur Prävention oder frühzeitigen Behandlung ergriffen werden bevor sich ein septischer Verlauf manifestiert. Eine Inhibition desIDO vermittelten Tryptophankatabolismus über den Kynureninweg durch die Gabe von Levo-1-Methyltryptophan wäre hier ein denkbarer Therapieansatz [127, 128].

Im weiteren Verlauf stieg die Aussagekraft des Quotienten mit AUC Werten von bis zu 0.94 am vierten Tag nach Trauma. Zu diesem Zeitpunkt muss jedoch bei einigen Patienten schon von septischen Zuständen ausgegangen werden, so dass zu diesem Zeitpunkt generell weniger eine Prognose als eine Unterscheidung zwischen Patienten mit hohem und niedrigem Risiko getroffen wird.

Insgesamt konnte mit den Daten dieser Studie der Stellenwert des Tryptophanstoffwechsels bei der Entstehung von SIRS und Sepsis bei polytraumatisierten Patienten demonstriert werden. Jedoch noch viel mehr als die absoluten Werte des Tryptophans oder seines Abbauproduktes Kynurenin erwies sich der hieraus zu errechnende Quotient (Kyn:Trpt) als ein wichtiger Parameter. Mit

Hilfe dieses Wertes gelingt es bereits im Schockraum eine sehr zuverlässige Aussage über die Prognose eines Patienten hinsichtlich der Entwicklung von SIRS und Sepsis zu treffen. Diese Einschätzung könnte in der Kombination mit der frühen Einleitung entsprechender therapeutischer Maßnahmen in der Behandlung polytraumatisierter Patienten zu einer Vermeidung septischer Krankheitsverläufe verhelfen. Dies stellt sowohl aus individualmedizinischer wie sozioökonomischer Sicht eine Optimierung der Polytraumaversorgung dar.

Zielsetzung

Insgesamt lassen sich die von uns formulierten Fragen wie folgt beantworten:

- Nach einem Polytrauma lassen sich im Serum erniedrigte Tryptophan- und erhöhte Kynureninkonzentrationen messen.
- Der Kynurenin:Tryptophan-Quotient ist bei Patienten nach Polytrauma mit septischem Verlauf im Vergleich zu Normalpersonen erhöht.
- Die Höhe der gemessenen Konzentration von Kynurenin unterscheidet sich bei Patienten mit und ohne Entwicklung einer Sepsis nach Trauma, während sich die Tryptophankonzentration nicht signifikant unterscheidet.
- Die Verletzung des Körperstamms führt zu höheren Konzentrationen von Kynurenin als die Verletzung der Extremitäten. Die Tryptophanwerte unterscheiden sich nicht signifikant.
- Der Quotient aus Tryptophan und Kynurenin erlaubt eine frühe prognostische Aussage über den posttraumatischen Verlauf des Patienten und könnte in Zukunft als neuer Marker genutzt werden.

5. Zusammenfassung

Die Mehrfachverletzung ist in Deutschland eine der Haupttodesursachen junger Menschen. Die Versorgung dieses Patientenkollektivs wird ständig verbessert um die Morbidität und Letalität und damit auch die sozioökonomische Belastung zu senken. Mit der zunehmenden Verbesserung der operativen Techniken kommt dabei der Behandlung pathophysiologischer Folgezustände nach dem Trauma eine zunehmende Bedeutung zu.

Daher sollte diese Arbeit untersuchen in wieweit die Parameter des Tryptophanstoffwechsels als Marker für die Entstehung dieser Folgezustände z.B. eines Systemic Inflammatory Response Syndrome geeignet sind und darüber hinaus eine Prognose bezüglich der Morbidität und Mortalität der Patienten zulassen.

Zu diesem Zweck wurden die Blutproben von 60 polytraumatisierten Patienten zu elf Abnahmezeitpunkten untersucht und daraus mittels HPLC die Konzentration an Tryptophan und Kynurenin bestimmt. Zusätzlich wurde der Kyn:Trpt Quotient als Parameter des Tryptophankatabolismus über den Kynureninweg errechnet. Für die gleichen Zeitpunkte wurden Routinelaborparameter und klinische Parameter erfasst. Aus den klinischen Verläufen der Patienten ergaben sich zwei Gruppen, eine Gruppe mit septischem Verlauf und eine Gruppe ohne septische Komplikationen. Es konnten bei allen Patienten bereits im Schockraum erniedrigte Tryptophanspiegel gemessen werden und ab dem ersten Tag nach dem Trauma erhöhte und immer weiter steigende Kynureninspiegel bei den Patienten, die im Verlauf eine Sepsis entwickelten. Besonders der Kyn:Trpt Quotient war in dieser Gruppe signifikant höher als bei Normalpersonen und wich bereits am ersten Tag nach Trauma signifikant von den Werten nicht septischer Patienten ab. Mittels ROC-Kurven wurde zusätzlich der Vorhersagewert des Kyn:Trpt Quotienten errechnet. Hierbei zeigte sich bereits im Schockraum eine gute Aussagekraft.

Um den Zusammenhang zwischen der Art der Verletzungen und dem Ausmaß des Tryptophankatabolismus zu untersuchen, wurden die Patienten in Untergruppen eingeteilt. So ergaben sich vier Gruppen: Patienten mit Thoracoabdominaltrauma und peripheren Frakturen und innerhalb dieser Gruppen jeweils Patienten mit und ohne septischem Verlauf. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied bei den

Tryptophanwerten dieser Patienten, abgesehen von den Unterschieden auf Grund der septischen Komplikationen, wie bereits beschrieben. Bei den Kynureninwerten konnten deutliche Unterschiede in Bezug auf das Verletzungsmuster gesehen werden. Bei Patienten mit Thoracoabdominaltrauma war ein deutlich höherer Anstieg des Kynurenins im Vergleich zu Patienten mit peripheren Frakturen messbar. Diese Ergebnisse geben einen ersten Hinweis auf die Korrelation der Art der verletzten Organe und dem daraus veränderten Tryptophanmetabolismus.

In dieser Studie konnte der Stellenwert des Tryptophanstoffwechsels bei der Entstehung von SIRS und Sepsis bei polytraumatisierten Patienten mit unterschiedlichen Verletzungsmustern gezeigt werden. Jedoch noch viel mehr als die absoluten Werte des Tryptophans oder seines Abbauproduktes Kynurenin erwies sich der hieraus zu errechnende Quotient (Kyn:Trpt) als ein wichtiger Parameter mit guter prognostischer Aussagekraft. Die frühe Einschätzung des Risikos jedes einzelnen Patienten hinsichtlich der Entwicklung septischer Komplikationen an Hand dieser Parameter bietet die Möglichkeit bereits früh entsprechende therapeutische Maßnahmen einzuleiten und die Prognose schwerstverletzter Patienten zu verbessern.

6. Literaturverzeichnis

1. Bundesamt, D., *Atlas zur Sterblichkeit in der Europäischen Union*. Statistiken zur Gesundheit, 2004.
2. Goris, R.J., *Conclusions of the workshops held during the Second International Congress on The Integrated Approach to Trauma Care, Nijmegen, May 1995*. Eur J Emerg Med, 1995. **2**(4): p. 236-8.
3. Cohen, J., *The immunopathogenesis of sepsis*. Nature, 2002. **420**(6917): p. 885-91.
4. Pellegrin, K., et al., *Enhanced enzymatic degradation of tryptophan by indoleamine 2,3-dioxygenase contributes to the tryptophan-deficient state seen after major trauma*. Shock, 2005. **23**(3): p. 209-15.
5. Della Chiesa, M., et al., *The tryptophan catabolite L-kynurenine inhibits the surface expression of NKp46- and NKG2D-activating receptors and regulates NK-cell function*. Blood, 2006. **108**(13): p. 4118-25.
6. Bozza, S., et al., *A crucial role for tryptophan catabolism at the host/Candida albicans interface*. J Immunol, 2005. **174**(5): p. 2910-8.
7. Brown, R.R., et al., *Implications of interferon-induced tryptophan catabolism in cancer, auto-immune diseases and AIDS*. Adv Exp Med Biol, 1991. **294**: p. 425-35.
8. Mellor, A.L. and D.H. Munn, *IDO expression by dendritic cells: tolerance and tryptophan catabolism*. Nat Rev Immunol, 2004. **4**(10): p. 762-74.
9. Moffett, J.R. and M.A. Namboodiri, *Tryptophan and the immune response*. Immunol Cell Biol, 2003. **81**(4): p. 247-65.
10. Sas, K., et al., *Mitochondria, metabolic disturbances, oxidative stress and the kynurenine system, with focus on neurodegenerative disorders*. J Neurol Sci, 2007. **257**(1-2): p. 221-39.
11. Kuhne, C.A., et al., *[Trauma centers in Germany. Status report]*. Unfallchirurg, 2006. **109**(5): p. 357-66.
12. Haas, N.P., *[Trauma surgery in Germany]*. Unfallchirurg, 1997. **100**(1): p. 1.
13. Tscherne H., T.O., Sturm J., *Lehrbuch der Chirurgie*. Berlin-Heidelberg-New York; Springer, 1986: p. 720-725.
14. Friedl, H.P. and O. Trentz, *[Multiple trauma: definition, shock, multiple organ failure]*. Unfallchirurgie, 1992. **18**(2): p. 64-8.
15. Brunkhorst, F.M., *Sepsis fordert viel mehr Todesopfer als gedacht*. Newsletter, Bundesministerium für Bildung und Forschung, 2004. **17**.
16. ACCP/SCCM, C.C.C., *Definition for sepsis and organ failure and guidelines for use of innovative therapies in sepsis*. Critical Care Medicine, 1992. **20**(6): p. 864-74.
17. Martin, G.S., et al., *The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000*. N Engl J Med, 2003. **348**(16): p. 1546-54.
18. Nast-Kolb, D., et al., *Multiple organ failure still a major cause of morbidity but not mortality in blunt multiple trauma*. J Trauma, 2001. **51**(5): p. 835-41; discussion 841-2.
19. Löffler, P., *Tryptophanstoffwechsel*. Biochemie und Pathobiochemie, 1998(6. Auflage): p. 561-563.
20. King, N.J. and S.R. Thomas, *Molecules in focus: Indoleamine 2,3-dioxygenase*. Int J Biochem Cell Biol, 2007.
21. Stryer, L., *Biochemie*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford, 1996.

22. Dai, W. and S.L. Gupta, *Regulation of indoleamine 2,3-dioxygenase gene expression in human fibroblasts by interferon-gamma. Upstream control region discriminates between interferon-gamma and interferon-alpha.* J Biol Chem, 1990. **265**(32): p. 19871-7.
23. Munn, D.H., et al., *Inhibition of T cell proliferation by macrophage tryptophan catabolism.* J Exp Med, 1999. **189**(9): p. 1363-72.
24. Pfefferkorn, E.R., *Interferon gamma blocks the growth of Toxoplasma gondii in human fibroblasts by inducing the host cells to degrade tryptophan.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1984. **81**(3): p. 908-12.
25. Pfefferkorn, E.R., S. Rebhun, and M. Eckel, *Characterization of an indoleamine 2,3-dioxygenase induced by gamma-interferon in cultured human fibroblasts.* J Interferon Res, 1986. **6**(3): p. 267-79.
26. Mulley, W.R. and D.J. Nikolic-Paterson, *Indoleamine 2,3-dioxygenase in transplantation.* Nephrology (Carlton), 2008. **13**(3): p. 204-11.
27. Yoshida, R., et al., *Interferon: a mediator of indoleamine 2,3-dioxygenase induction by lipopolysaccharide, poly(I) X poly(C), and pokeweed mitogen in mouse lung.* Arch Biochem Biophys, 1986. **249**(2): p. 596-604.
28. Adams, O., et al., *Inhibition of human herpes simplex virus type 2 by interferon gamma and tumor necrosis factor alpha is mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase.* Microbes Infect, 2004. **6**(9): p. 806-12.
29. Daubener, W., et al., *Restriction of Toxoplasma gondii growth in human brain microvascular endothelial cells by activation of indoleamine 2,3-dioxygenase.* Infect Immun, 2001. **69**(10): p. 6527-31.
30. MacKenzie, C.R., et al., *Cytokine mediated regulation of interferon-gamma-induced IDO activation.* Adv Exp Med Biol, 1999. **467**: p. 533-9.
31. MacKenzie, C.R., et al., *Role of indoleamine 2,3-dioxygenase in antimicrobial defence and immuno-regulation: tryptophan depletion versus production of toxic kynurenines.* Curr Drug Metab, 2007. **8**(3): p. 237-44.
32. Munn, D.H., et al., *Prevention of allogeneic fetal rejection by tryptophan catabolism.* Science, 1998. **281**(5380): p. 1191-3.
33. Meisel, R., et al., *Human bone marrow stromal cells inhibit allogeneic T-cell responses by indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated tryptophan degradation.* Blood, 2004. **103**(12): p. 4619-21.
34. Rubin, B.Y., et al., *Interferon induces tryptophanyl-tRNA synthetase expression in human fibroblasts.* J Biol Chem, 1991. **266**(36): p. 24245-8.
35. Fleckner, J., et al., *Differential regulation of the human, interferon inducible tryptophanyl-tRNA synthetase by various cytokines in cell lines.* Cytokine, 1995. **7**(1): p. 70-7.
36. Frolova, L.Y., et al., *The human gene encoding tryptophanyl-tRNA synthetase: interferon-response elements and exon-intron organization.* Gene, 1993. **128**(2): p. 237-45.
37. Strehlow, I., et al., *The gene encoding IFP 53/tryptophanyl-tRNA synthetase is regulated by the gamma-interferon activation factor.* J Biol Chem, 1993. **268**(22): p. 16590-5.
38. Tolstrup, A.B., et al., *Transcriptional regulation of the interferon-gamma-inducible tryptophanyl-tRNA synthetase includes alternative splicing.* J Biol Chem, 1995. **270**(1): p. 397-403.
39. Murray, M.F., *Tryptophan depletion and HIV infection: a metabolic link to pathogenesis.* Lancet Infect Dis, 2003. **3**(10): p. 644-52.
40. Muller, A., et al., *The missing link between indoleamine 2,3-dioxygenase mediated antibacterial and immunoregulatory effects.* J Cell Mol Med, 2008.

41. Kwidzinski, E. and I. Bechmann, *IDO expression in the brain: a double-edged sword*. J Mol Med, 2007. **85**(12): p. 1351-9.
42. Schwarcz, R., W.O. Whetsell, Jr., and R.M. Mangano, *Quinolinic acid: an endogenous metabolite that produces axon-sparing lesions in rat brain*. Science, 1983. **219**(4582): p. 316-8.
43. Smith, A.J., T.W. Stone, and R.A. Smith, *Neurotoxicity of tryptophan metabolites*. Biochem Soc Trans, 2007. **35**(Pt 5): p. 1287-9.
44. Hirsch, J.G. and Z.A. Cohn, *Degranulation of polymorphonuclear leucocytes following phagocytosis of microorganisms*. J Exp Med, 1960. **112**: p. 1005-14.
45. Hildebrand, F., H.C. Pape, and C. Krettek, *[The importance of cytokines in the posttraumatic inflammatory reaction]*. Unfallchirurg, 2005. **108**(10): p. 793-4, 796-803.
46. Neidhardt, R., et al., *Relationship of interleukin-10 plasma levels to severity of injury and clinical outcome in injured patients*. J Trauma, 1997. **42**(5): p. 863-70; discussion 870-1.
47. Sherry, R.M., et al., *Interleukin-10 is associated with the development of sepsis in trauma patients*. J Trauma, 1996. **40**(4): p. 613-6; discussion 616-7.
48. Murphey, E.D., et al., *Diminished bacterial clearance is associated with decreased IL-12 and interferon-gamma production but a sustained proinflammatory response in a murine model of postseptic immunosuppression*. Shock, 2004. **21**(5): p. 415-25.
49. Toliver-Kinsky, T.E., et al., *Interferon-gamma production is suppressed in thermally injured mice: decreased production of regulatory cytokines and corresponding receptors*. Shock, 2002. **18**(4): p. 322-30.
50. Bone, R.C., *Immunologic dissonance: a continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome (MODS)*. Ann Intern Med, 1996. **125**(8): p. 680-7.
51. Flohe, S.B., S. Flohe, and F.U. Schade, *Invited review: deterioration of the immune system after trauma: signals and cellular mechanisms*. Innate Immun, 2008. **14**(6): p. 333-44.
52. Napolitano, L.M., et al., *Immune dysfunction in trauma*. Surg Clin North Am, 1999. **79**(6): p. 1385-416.
53. Mellor, A.L., et al., *Cells expressing indoleamine 2,3-dioxygenase inhibit T cell responses*. J Immunol, 2002. **168**(8): p. 3771-6.
54. Fuchs, D., et al., *Decreased serum tryptophan in patients with HIV-1 infection correlates with increased serum neopterin and with neurologic/psychiatric symptoms*. J Acquir Immune Defic Syndr, 1990. **3**(9): p. 873-6.
55. Hwu, P., et al., *Indoleamine 2,3-dioxygenase production by human dendritic cells results in the inhibition of T cell proliferation*. J Immunol, 2000. **164**(7): p. 3596-9.
56. Mayoral, J.L., C.J. Schweich, and D.L. Dunn, *Decreased tumor necrosis factor production during the initial stages of infection correlates with survival during murine gram-negative sepsis*. Arch Surg, 1990. **125**(1): p. 24-7; discussion 28.
57. Widner, B., et al., *Enhanced tryptophan degradation in systemic lupus erythematosus*. Immunobiology, 2000. **201**(5): p. 621-30.
58. Baker, S.P., et al., *The injury severity score: a method for describing patients with multiple injuries and evaluating emergency care*. J Trauma, 1974. **14**(3): p. 187-96.
59. Greenspan, L., B.A. McLellan, and H. Greig, *Abbreviated Injury Scale and Injury Severity Score: a scoring chart*. J Trauma, 1985. **25**(1): p. 60-4.

60. Levy, M.M., et al., 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*, 2003. **31**(4): p. 1250-6.
61. Marshall, J.C., et al., *Multiple organ dysfunction score: a reliable descriptor of a complex clinical outcome*. *Crit Care Med*, 1995. **23**(10): p. 1638-52.
62. Heseler, K., et al., *Antimicrobial and immunoregulatory effects mediated by human lung cells: role of IFN-gamma-induced tryptophan degradation*. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2008. **52**(2): p. 273-81.
63. Iwasaki, A., et al., *Lung cancer surgery in patients with liver cirrhosis*. *Ann Thorac Surg*, 2006. **82**(3): p. 1027-32.
64. Puccetti, P. and U. Grohmann, *IDO and regulatory T cells: a role for reverse signalling and non-canonical NF-kappaB activation*. *Nat Rev Immunol*, 2007. **7**(10): p. 817-23.
65. Romani, L., et al., *Defective tryptophan catabolism underlies inflammation in mouse chronic granulomatous disease*. *Nature*, 2008. **451**(7175): p. 211-5.
66. Bouillon, B., et al., *[Quality assurance in the management of severely ill patients: how can score systems help?]*. *Unfallchirurg*, 1994. **97**(4): p. 191-8.
67. Champion, H.R., et al., *The Major Trauma Outcome Study: establishing national norms for trauma care*. *J Trauma*, 1990. **30**(11): p. 1356-65.
68. Ruchholtz, S., *[The trauma network of the German Society of Accident Surgery]*. *Chirurg*, 2007. **Suppl**: p. 266-7.
69. Ruchholtz, S., C.A. Kuhne, and H. Siebert, *[Trauma network of the German Association of Trauma Surgery (DGU). Establishment, organization, and quality assurance of a regional trauma network of the DGU]*. *Unfallchirurg*, 2007. **110**(4): p. 373-9.
70. Frink, M., et al., *Influence of sex and age on mods and cytokines after multiple injuries*. *Shock*, 2007. **27**(2): p. 151-6.
71. Pape, H.C., et al., *Assessment of the clinical course with inflammatory parameters*. *Injury*, 2007. **38**(12): p. 1358-64.
72. Knöferl and P.M. Knöferl M. W., Liener U.C., Kinzl L. , Brückner U.B. und Gebhard F., *Eine posttraumatische Östrogentherapie vermindert die durch ein stumpfes Thoraxtrauma induzierte Entzündungsreaktion*. *Chirurgische Forum* 2005. Vol. 34. 2005. 343-345.
73. Acosta, J.A., et al., *Lethal injuries and time to death in a level I trauma center*. *J Am Coll Surg*, 1998. **186**(5): p. 528-33.
74. Baker, C.C., et al., *Epidemiology of trauma deaths*. *Am J Surg*, 1980. **140**(1): p. 144-50.
75. Demetriades, D., et al., *Trauma fatalities: time and location of hospital deaths*. *J Am Coll Surg*, 2004. **198**(1): p. 20-6.
76. Rogers, F.B., et al., *Trauma deaths in a mature urban vs rural trauma system. A comparison*. *Arch Surg*, 1997. **132**(4): p. 376-81; discussion 381-2.
77. Nast-Kolb, D., et al., *Indicators of the posttraumatic inflammatory response correlate with organ failure in patients with multiple injuries*. *J Trauma*, 1997. **42**(3): p. 446-54; discussion 454-5.
78. Ni Choileain, N. and H.P. Redmond, *Cell response to surgery*. *Arch Surg*, 2006. **141**(11): p. 1132-40.
79. Roumen, R.M., et al., *Cytokine patterns in patients after major vascular surgery, hemorrhagic shock, and severe blunt trauma. Relation with subsequent adult respiratory distress syndrome and multiple organ failure*. *Ann Surg*, 1993. **218**(6): p. 769-76.
80. Menger, M.D. and B. Vollmar, *Surgical trauma: hyperinflammation versus immunosuppression?* *Langenbecks Arch Surg*, 2004. **389**(6): p. 475-84.

81. Pape, H.C., et al., *Biochemical changes after trauma and skeletal surgery of the lower extremity: quantification of the operative burden*. Crit Care Med, 2000. **28**(10): p. 3441-8.
82. Lenz, A., G.A. Franklin, and W.G. Cheadle, *Systemic inflammation after trauma*. Injury, 2007. **38**(12): p. 1336-45.
83. Moore, F.A. and E.E. Moore, *Evolving concepts in the pathogenesis of postinjury multiple organ failure*. Surg Clin North Am, 1995. **75**(2): p. 257-77.
84. Waydhas, C., et al., *Posttraumatic inflammatory response, secondary operations, and late multiple organ failure*. J Trauma, 1996. **40**(4): p. 624-30; discussion 630-1.
85. Lackner, C.K., et al., *[Prognostic value of routine parameters and laboratory parameters after major trauma. A prospective preclinical-clinical study of air rescue patients]*. Unfallchirurg, 2007. **110**(4): p. 307-19.
86. Callaway, D.W., et al., *Serum lactate and base deficit as predictors of mortality in normotensive elderly blunt trauma patients*. J Trauma, 2009. **66**(4): p. 1040-4.
87. Rixen, D., et al., *Base deficit development and its prognostic significance in posttrauma critical illness: an analysis by the trauma registry of the Deutsche Gesellschaft fur unfallchirurgie*. Shock, 2001. **15**(2): p. 83-9.
88. Widner, B., et al., *Simultaneous measurement of serum tryptophan and kynurenine by HPLC*. Clin Chem, 1997. **43**(12): p. 2424-6.
89. Mackay, G.M., et al., *Tryptophan metabolism and oxidative stress in patients with chronic brain injury*. Eur J Neurol, 2006. **13**(1): p. 30-42.
90. Giannoudis, P.V., et al., *Serum CRP and IL-6 levels after trauma. Not predictive of septic complications in 31 patients*. Acta Orthop Scand, 1998. **69**(2): p. 184-8.
91. Parnaby, R.M., et al., *The value of serum C-reactive protein levels as a marker of sepsis in intensive care unit patients*. Clin Intensive Care, 1994. **5**(3): p. 106-13.
92. Moore, F.A., et al., *TEN versus TPN following major abdominal trauma--reduced septic morbidity*. J Trauma, 1989. **29**(7): p. 916-22; discussion 922-3.
93. Lendemans, S., et al., *Differential immunostimulating effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) and interferon gamma (IFNgamma) after severe trauma*. Inflamm Res, 2007. **56**(1): p. 38-44.
94. Madihally, S.V., et al., *Interferon gamma modulates trauma-induced muscle wasting and immune dysfunction*. Ann Surg, 2002. **236**(5): p. 649-57.
95. McDaniel, D.O., et al., *Molecular analysis of inflammatory markers in trauma patients at risk of postinjury complications*. J Trauma, 2007. **63**(1): p. 147-57; discussion 157-8.
96. Hotchkiss, R.S. and I.E. Karl, *The pathophysiology and treatment of sepsis*. N Engl J Med, 2003. **348**(2): p. 138-50.
97. Belladonna, M.L., et al., *Kynurenine pathway enzymes in dendritic cells initiate tolerogenesis in the absence of functional IDO*. J Immunol, 2006. **177**(1): p. 130-7.
98. Frumento, G., et al., *Tryptophan-derived catabolites are responsible for inhibition of T and natural killer cell proliferation induced by indoleamine 2,3-dioxygenase*. J Exp Med, 2002. **196**(4): p. 459-68.
99. Terness, P., et al., *Inhibition of allogeneic T cell proliferation by indoleamine 2,3-dioxygenase-expressing dendritic cells: mediation of suppression by tryptophan metabolites*. J Exp Med, 2002. **196**(4): p. 447-57.

100. Okamoto, A., et al., *Indoleamine 2,3-dioxygenase serves as a marker of poor prognosis in gene expression profiles of serous ovarian cancer cells*. Clin Cancer Res, 2005. **11**(16): p. 6030-9.
101. Uyttenhove, C., et al., *Evidence for a tumoral immune resistance mechanism based on tryptophan degradation by indoleamine 2,3-dioxygenase*. Nat Med, 2003. **9**(10): p. 1269-74.
102. Guillemin, G.J. and B.J. Brew, *Implications of the kynurenine pathway and quinolinic acid in Alzheimer's disease*. Redox Rep, 2002. **7**(4): p. 199-206.
103. Heyes, M.P., et al., *Human microglia convert L-tryptophan into the neurotoxin quinolinic acid*. Biochem J, 1996. **320 (Pt 2)**: p. 595-7.
104. Maneglier, B., et al., *Modulation of indoleamine-2,3-dioxygenase expression and activity by HIV-1 in human macrophages*. Fundam Clin Pharmacol, 2009.
105. Yamada, A., et al., *Proinflammatory cytokine interferon-gamma increases induction of indoleamine 2,3-dioxygenase in monocytic cells primed with amyloid beta peptide 1-42: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease*. J Neurochem, 2009. **110**(3): p. 791-800.
106. Yoshimura, H., et al., *Effects of kynurenine metabolites on mesangial cell proliferation and gene expression*. Exp Mol Pathol, 2009. **87**(1): p. 70-5.
107. Hietbrink, F., et al., *Trauma: the role of the innate immune system*. World J Emerg Surg, 2006. **1**: p. 15.
108. Keel, M. and O. Trentz, *Pathophysiology of polytrauma*. Injury, 2005. **36**(6): p. 691-709.
109. Pillay, J., et al., *The systemic inflammatory response induced by trauma is reflected by multiple phenotypes of blood neutrophils*. Injury, 2007. **38**(12): p. 1365-72.
110. Seitz, D.H., et al., *Pulmonary contusion induces alveolar type 2 epithelial cell apoptosis: role of alveolar macrophages and neutrophils*. Shock, 2008. **30**(5): p. 537-44.
111. Scholz, M., et al., *Neutrophils and the blood-brain barrier dysfunction after trauma*. Med Res Rev, 2007. **27**(3): p. 401-16.
112. Margraf, S., et al., *Neutrophil-derived circulating free DNA (cf-DNA/NETs): a potential prognostic marker for posttraumatic development of inflammatory second hit and sepsis*. Shock, 2008. **30**(4): p. 352-8.
113. Scholz, M., et al., *First efficacy and safety results with the antibody containing leukocyte inhibition module in cardiac surgery patients with neutrophil hyperactivity*. Asaio J, 2005. **51**(2): p. 144-7.
114. Scholz, M., et al., *Relocalization of endothelial cell beta-catenin after coculture with activated neutrophils from patients undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass*. J Invest Surg, 2004. **17**(3): p. 143-9.
115. Scholz, M., et al., *Cardiac surgery with extracorporeal circulation: neutrophil transendothelial migration is mediated by beta1 integrin (CD29) in the presence of TNF-alpha*. J Invest Surg, 2004. **17**(5): p. 239-47.
116. Scholz, M., et al., *In vivo inhibition of neutrophil activity by a FAS (CD95) stimulating module: arterial in-line application in a porcine cardiac surgery model*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2004. **127**(6): p. 1735-42.
117. Scholz, M., et al., *Leukocyte filtration fails to limit functional neutrophil activity during cardiac surgery*. Inflamm Res, 2002. **51**(7): p. 363-8.
118. Scholz, T., et al., *The GPIIb/IIIa antagonist eptifibatid markedly potentiates platelet-leukocyte interaction and tissue factor expression following platelet activation in whole blood in vitro*. Platelets, 2002. **13**(7): p. 401-6.

119. Schuller, A.M., et al., *Degradation of microvascular brain endothelial cell beta-catenin after co-culture with activated neutrophils from patients undergoing cardiac surgery with prolonged cardiopulmonary bypass*. Biochem Biophys Res Commun, 2005. **329**(2): p. 616-23.
120. Iwamoto, N., et al., *Upregulation of indoleamine 2,3-dioxygenase in hepatocyte during acute hepatitis caused by hepatitis B virus-specific cytotoxic T lymphocytes in vivo*. Liver Int, 2009. **29**(2): p. 277-83.
121. Probst, C., et al., *[The economic challenges of polytrauma care.]*. Unfallchirurg, 2009.
122. Logters, T., et al., *The clinical value of neutrophil extracellular traps*. Med Microbiol Immunol, 2009.
123. Windolf, J. and H.D. Inglis R, Rueger J, *Prädiktive Faktoren des Multiorganversagens*. Der Unfallchirurg, 1996(262): p. 173.
124. Windolf, J., et al., *[Prospective validation of PMN-elastase as a prognostic parameter in the surgical intensive care unit]*. Unfallchirurgie, 1994. **20**(5): p. 239-50.
125. Raum, M. and M.V. M. Nijsten, H.j. ten Duis, *Der "Combined Trauma Score" zur Prognoseeinschätzung des Polytraumas, eine Analyse des Traumaregisters der DGU an 17.200 Patienten*. DGU, Meeting Abstract, 2006.
126. Laich, A., et al., *More rapid method for simultaneous measurement of tryptophan and kynurenine by HPLC*. Clin Chem, 2002. **48**(3): p. 579-81.
127. Lob, S., et al., *Levo- but not dextro-1-methyl tryptophan abrogates the IDO activity of human dendritic cells*. Blood, 2008. **111**(4): p. 2152-4.
128. Qian, F., et al., *Efficacy of levo-1-methyl tryptophan and dextro-1-methyl tryptophan in reversing indoleamine-2,3-dioxygenase-mediated arrest of T-cell proliferation in human epithelial ovarian cancer*. Cancer Res, 2009. **69**(13): p. 5498-504.

7. Anhang

Publikationen



Der Tryptophan Stoffwechsel bei der Entstehung posttraumatischer SIRS: Indikator und therapeutisches Ziel?

M. Scholz, J. Reipen, J. Cinatl*, W. Linhart, M. Schädel-Höpfner, J. Windolf

Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Klinik für Unfall- und Handchirurgie; *Institut für Medizinische Virologie, Frankfurt am Main martin.scholz@uni-duesseldorf.de

Einführung:

Tryptophan und dessen Abbauprodukte könnten eine Schlüsselrolle bei der Steuerung immunologischer Prozesse nach einem Polytrauma spielen (1, 2). Die durch das Enzym Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) entstehenden Abbauprodukte von Tryptophan, z.B. Kynurenin, können zusätzlich direkte Organschädigungen bewirken. Daher sollte die Rolle von IDO, tryptophanyl-tRNA-synthetase (TTS), Tryptophan und Kynurenin im Rahmen der posttraumatischen SIRS-Entstehung unter Berücksichtigung der Neutrophilen-Aktivierung untersucht werden.

Patienten und Methoden:

Bei 11 Polytrauma Patienten (ISS > 16) wurde täglich Blutproben von Tag 1 (Schockraum) bis Tag 10 gewonnen. Aus dem Serum der Patienten wurde mittels HPLC der Tryptophan- und Kynurenin Gehalt gemessen. Die Leukozyten wurden aus dem Vollblut über eine Dichtegradientenzentrifugation getrennt und in Trizol eingefroren. Mittels quantitativer PCR wurde dann die Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) sowie die TTS mRNA gemessen.

Tabelle 1.

#	Alter	ISS	ISSHT	Thorax-Trauma	Abdominal-Trauma	Beckenfraktur	Intensiv-tage	SIRS/Sepsis	Tod
1	92	36	II*	X			5	NEIN	
2	29	24				X	8	NEIN	
3	21	27	I*	X			147	JA	X
4	80	29		X	X		43	JA	X
5	72	16		X			1	NEIN	
6	59	41	II*	X	X	X	25	JA	X
7	31	29		X		X	5	NEIN	
8	21	29	II*			X	6	NEIN	
9	38	20			X		1	NEIN	
10	22	17	I*	X			1	NEIN	
11	42	16		X			10	NEIN	

Ergebnisse:

Bei allen Polytrauma Patienten (n=11) wurden im Schockraum verminderte (20-50 micromol/l) Tryptophan-Konzentrationen (Normbereich: 60-90 micromol/l) im Serum gemessen. Am 4.-8. Tag nach Trauma stiegen bei allen Patienten die Tryptophan-Konzentrationen bis zu 700% (Abb. 1A) sowie bei drei Patienten die Kynurenin-Konzentrationen bis zu 400% (Abb. 1B) an. Die Erhöhung der Tryptophan- und Kynurenin-Konzentrationen im Serum korrelierte mit dem klinischen Outcome der Patienten (Tabelle 1). Alle Patienten mit signifikantem Kynurenin Anstieg entwickelten im weiteren Verlauf ein posttraumatisches SIRS und verstarben. Bei 4/4 Patienten wurde posttraumatisch eine signifikant veränderte IDO und TTS Expression mittels quantitativer PCR in Neutrophilen, jedoch nicht in Lymphozyten nachgewiesen (Abb. 2).

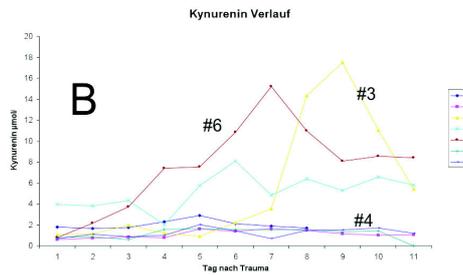
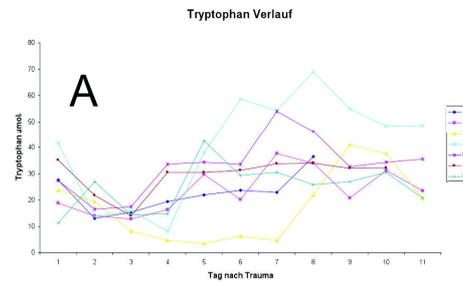


Abbildung 1. Tryptophan- (A) und Kynurenin (B)-Konzentrationen im Serum von Polytrauma-Patienten im Zeitverlauf nach Mehrfachtrauma

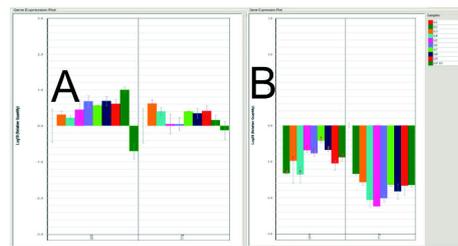


Abbildung 2. IDO- und TTS-Expression in Neutrophilen von zwei Polytrauma-Patienten

Diskussion:

Die Ergebnisse deuten auf eine wesentliche Rolle des Tryptophan-Abbaus durch IDO bei der Entstehung posttraumatischer SIRS/Sepsis hin. Hohe Konzentrationen von Kynurenin schädigen das Gewebe und könnten zum Teil mit der Mortalität (hier: 3/11) assoziiert sein. Unsere Vermutung, dass aktivierte Neutrophile durch verstärkte IDO-Expression nach einem Trauma Tryptophan und somit weitere Immunreaktionen (T-Zellaktivierung) modulieren könnten, wurde hier erstmals bestätigt. Die Inhibition hyperaktiver Neutrophiler und/oder die Hemmung von IDO könnten wichtige therapeutische Strategien sein. Funktionelle Experimente zum Einfluss der Neutrophilen-IDO auf die posttraumatische Immunparalyse und Sepsis werden derzeit durchgeführt.

1. Bozza S, Fallarino F, Pitzurra L, Zelante T, Montagnoli C, Bellocchio S, Mosci P, Vacca C, Puccetti P, Romani L. A crucial role for tryptophan catabolism at the host/Candida albicans interface. J Immunol. 2005 Mar 1;174(5):2910-8.
 2. Pellegrin K, Neuraeter G, Wirleitner B, Fleming AW, Peterson VM, Fuchs D. Enhanced enzymatic degradation of tryptophan by indoleamine 2,3-dioxygenase contributes to the tryptophan-deficient state seen after major trauma. Shock. 2005 Mar;23(3):209-15.

[Home](#) | [About](#) | [Contact](#) | [Imprint](#) | [German](#)



Deutscher Kongress für Orthopädie und Unfallchirurgie
71. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie, 93. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Orthopädie und Orthopädische Chirurgie und 48. Tagung des Berufsverbandes der Fachärzte für Orthopädie und Unfallchirurgie
24. - 27.10.2007, Berlin

published by



Meeting

DKOU2007

Search DKOU2007

Email this Article

Output Options

XML

Meeting Abstract

Prognostische Bedeutung des Tryptophanstoffwechsels für die Entstehung der SIRS bei polytraumatisierten Patienten

 **T. Lögters** - Universitätsklinikum Düsseldorf, Klinik für Unfall- und Handchirurgie, Düsseldorf, Germany

 **M. Scholz** - Universitätsklinikum Düsseldorf, Klinik für Unfall- und Handchirurgie, Düsseldorf, Germany

 **J. Reipen** - Universitätsklinikum Düsseldorf, Klinik für Unfall- und Handchirurgie, Düsseldorf, Germany

 **J. Cinatl** - Universitätsklinikum Frankfurt am Main, Institut für Medizinische Virologie, Frankfurt, Germany

 **W. Linhart** - Universitätsklinikum Düsseldorf, Klinik für Unfall- und Handchirurgie, Düsseldorf, Germany

 **M. Schädel-Höpfner** - Universitätsklinikum Düsseldorf, Klinik für Unfall- und Handchirurgie, Düsseldorf, Germany

 **J. Windolf** - Universitätsklinikum Düsseldorf, Klinik für Unfall- und Handchirurgie, Düsseldorf, Germany

Deutscher Kongress für Orthopädie und Unfallchirurgie. 71. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie, 93. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Orthopädie und Orthopädische Chirurgie, 48. Tagung des Berufsverbandes der Fachärzte für Orthopädie. Berlin, 24.-27.10.2007. Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2007. Doc E26-199

Die elektronische Version dieses Artikels ist vollständig und ist verfügbar unter:

<http://www.egms.de/en/meetings/dkou2007/07dkou116.shtml>

Veröffentlicht: 09-10-2007

© 2007 Lögters et al.

Dieser Artikel ist ein Open Access-Artikel und steht unter den Creative Commons Lizenzbedingungen (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/deed.de>).

Sie dürfen: den Inhalt vervielfältigen, verbreiten und öffentlich aufführen, vorausgesetzt dass Autor und Quelle genannt werden.

Search Medline for

Lögters T

Scholz M

Reipen J

Cinatl J

Linhart W

Schädel-Höpfner M

Windolf J

Outline

Top

Text

Text

Fragestellung: Tryptophan und dessen Abbauprodukte könnten eine Schlüsselrolle bei der Steuerung immunologischer Prozesse nach einem Polytrauma spielen. Die durch das Enzym Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) entstehenden Abbauprodukte von Tryptophan, z.B. Kynurenin, können zusätzlich direkte Organschädigungen bewirken. Daher sollte die Rolle von IDO,

Tryptophanyl-tRNA-Synthetase (TTS), Tryptophan und Kynurenin im Rahmen der posttraumatischen SIRS-Entstehung unter Berücksichtigung der Neutrophilen-Aktivierung untersucht werden.

Methodik: Bei 20 Polytrauma Patienten (ISS > 16) wurden täglich Blutproben von Tag 1 (Schockraum) bis Tag 10 gewonnen. Aus dem Serum der Patienten wurde mittels HPLC die Tryptophan- und Kynureninkonzentration gemessen. Die Leukozyten wurden aus dem Vollblut über eine Dichtegradientenzentrifugation getrennt und in Trizol eingefroren. Mittels quantitativer PCR wurde dann die Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) sowie die TTS mRNA gemessen.

Ergebnisse: Bei allen Polytrauma Patienten (n=20) wurden im Schockraum verminderte (20-50 µmol/l) Tryptophan- Konzentrationen (Normbereich: 60-90 µmol/l) im Serum gemessen. Am 4.-8. Tag nach Trauma stiegen bei allen Patienten die Tryptophan-Konzentrationen bis zu 700% sowie bei drei Patienten die Kynurenin- Konzentrationen bis zu 400% an. Die Erhöhung der Tryptophan- und Kynurenin-Konzentrationen im Serum korrelierte mit dem klinischen Outcome der Patienten. Patienten mit signifikantem Kynurenin Anstieg entwickelten im weiteren Verlauf ein posttraumatisches SIRS und verstarben. Bei 4/4 Patienten wurde posttraumatisch eine signifikant veränderte IDO und TTS Expression mittels quantitativer PCR in Neutrophilen, jedoch nicht in Lymphozyten nachgewiesen.

Schlussfolgerungen: Die Ergebnisse deuten auf eine wesentliche Rolle des Tryptophan-Abbaus durch IDO bei der Entstehung posttraumatischer SIRS/Sepsis hin. Hohe Konzentrationen von Kynurenin schädigen das Gewebe und könnten zum Teil mit der Mortalität assoziiert sein. Unsere Vermutung, dass aktivierte Neutrophile durch verstärkte IDO-Expression nach einem Trauma Tryptophan und somit weitere Immunreaktionen (T-Zellaktivierung) modulieren könnten, wurde hier erstmals bestätigt. Die Inhibition hyperaktiver Neutrophiler und/oder die Hemmung von IDO könnten wichtige therapeutische Strategien sein.

SHOCK, Vol. 32, No. 1, pp. 29–34, 2009

INCREASED PLASMA KYNURENINE VALUES AND KYNURENINE-TRYPTOPHAN RATIOS AFTER MAJOR TRAUMA ARE EARLY INDICATORS FOR THE DEVELOPMENT OF SEPSIS

Tim T. Lögters,* Maurice D. Laryea,[†] Jens Altrichter,* Janina Sokolowski,* Jindrich Cinatl,[‡] Jenny Reipen,* Wolfgang Linhart,* Joachim Windolf,* Martin Scholz,* and Michael Wild*

Departments of *Trauma and Hand Surgery and [†]General Paediatrics, University Hospital Düsseldorf, and [‡]Institute for Medical Virology, Johann Wolfgang Goethe University, Frankfurt am Main, Germany

Received 10 Sept 2008; first review completed 7 Oct 2008; accepted in final form 18 Nov 2008

ABSTRACT—Kynurenine, the major degradation product of tryptophan has been shown to directly damage tissues, but its possible contribution to posttraumatic morbidity is unknown. Here, we studied the kinetics of kynurenine in patients after major trauma and whether this correlates with the development of posttraumatic sepsis. Kynurenine and tryptophan levels of 60 multiple-injured patients with Injury Severity Score of more than 16 were quantified prospectively by high-performance liquid chromatography. Blood samples were obtained daily from admission until day 10 after admission. Significantly increased kynurenine values were detectable already at day 1 after admission in blood from patients who later developed sepsis, regardless of injury pattern ($P < 0.01$). In contrast, kynurenine values of nonsepsis patients remained low throughout the observation period. However, all patients exhibited significantly decreased tryptophan values versus healthy controls ($P < 0.01$). Moreover, significantly increased kynurenine-tryptophan ratios rapidly predicted subsequent sepsis, multiple organ failure, and death ($P < 0.01$). Both increased kynurenine values and kynurenine-tryptophan ratios predicted posttraumatic development of sepsis and organ failure. This ought to be validated in subsequent studies.

KEYWORDS—Tryptophan, kynurenine, sepsis, trauma, multiple organ failure

SHOCK, Vol. 30, No. 4, pp. 352–358, 2008

NEUTROPHIL-DERIVED CIRCULATING FREE DNA (CF-DNA/NETS): A POTENTIAL PROGNOSTIC MARKER FOR POSTTRAUMATIC DEVELOPMENT OF INFLAMMATORY SECOND HIT AND SEPSIS

Stefan Margraf,* Tim Lögters,[†] Jenny Reipen,[†] Jens Altrichter,[†] Martin Scholz,[†] and Joachim Windolf[†]

*Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Johann Wolfgang Goethe University, Frankfurt am Main; and [†]Department of Trauma and Hand Surgery, Heinrich-Heine University, Düsseldorf, Germany

Received 14 Aug 2007; first review completed 21 Sep 2007; accepted in final form 24 Jan 2008

ABSTRACT—The release of “neutrophil extracellular traps” (NETs) has been identified as a novel immune response in innate immunity. Neutrophil extracellular traps are composed of neutrophil-derived circulating free DNA (cf-DNA), histones, and neutrophil cytoplasm-derived proteins such as proteases. Here, we studied the putative predictive value of plasma cf-DNA/NETs for the development of sepsis and mortality after multiple trauma. In a prospective pilot study with 45 multiple trauma (Injury Severity Score >16) patients, cf-DNA was directly quantified in plasma. Blood samples were sequentially obtained daily from admission to our Trauma Center until day 10. Because of limited intensive care unit (ICU) stay of less than 3 days, 8 patients have been excluded, resulting in 37 patients that were evaluated. Time kinetics of cf-DNA/NETs was compared with C-reactive protein (CRP), interleukin (IL) 6, leukocyte counts, and myeloperoxidase. The severity of the injury was calculated on the basis of the Injury Severity Score, as well as Multiple Organ Dysfunction Score, Sequential Organ Failure Assessment, and Simplified Acute Physiology Score II on ICU. Initially high cf-DNA/NETs values (>800 ng/mL) with recurrent increased values between days 5 to 9 were associated with subsequent sepsis, multiple organ failure, and death. In conjunction with cf-DNA/NETs, IL-6 was significantly elevated after admission. However, the development of a second hit was not indicated by IL-6. In contrast to cf-DNA/NETs, no difference in CRP kinetics was observed between patients with and without development of sepsis. Circulating free DNA/NETs kinetics rather followed kinetics of Multiple Organ Dysfunction Score, Sepsis-related Organ Failure Assessment, leukocyte counts, and partially of myeloperoxidase. Circulating free DNA/NETs seems to be a valuable additional marker for the calculation of injury severity and/or prediction of inflammatory second hit on ICU. However, a large clinical trial with severely injured patients should confirm the prognostic value of neutrophil-derived cf-DNA/NETs.

KEYWORDS—NETs, neutrophils, multiple trauma, inflammation, SIRS, multiple organ failure

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater und Direktor der Klinik für Unfall- und Handchirurgie der Uniklinik Düsseldorf, Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf für die Überlassung dieses interessanten Themas, sowie die Förderung und Bereitstellung der finanziellen Mittel. Darüber hinaus danke ich Ihm für die Vermittlung von Freude und stetiger Begeisterung für die wissenschaftliche Arbeit.

Ich bedanke mich bei meinem Projekt- und Forschungsleiter, Herrn Prof. Dr. phil. nat. Martin Scholz, für die konstruktiven Anregungen und die fortwährende, motivierende Unterstützung.

Ich bedanke mich bei Herrn Dr. med. Tim Tobias Lögters für die stetige konstruktive, freundschaftliche und tatkräftige Hilfe, besonders bei der schwierigen Etablierung der Probengewinnung.

Frau Dr. Teresa Jeri danke ich für die statistische Auswertung der Daten und Herrn Dr. rer. nat. Maurice Laryea für die Unterstützung bei den vielen HPLC-Messungen.

Ich bedanke mich bei Herrn Prof. Dr. med. Detlef Kindgen-Milles für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Besonderer Dank gilt außerdem Frau Samira Seghrouchni, Frau Jutta Schneider und Frau Dr. rer. nat. A. Paunel-Görgülü aus dem Forschungslabor der Klinik für Unfall- und Handchirurgie für die freundschaftliche Zusammenarbeit und die tatkräftige, exzellente Unterstützung.

Von ganzem Herzen danke ich meinen Eltern Bruni und Horst Reipen, meinen Geschwistern Christian und Janine Reipen sowie Alexander, meinem besten Freund und Partner, für Ihre Liebe und Unterstützung.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich – Jennifer Reipen – die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel und Quellen benutzt habe. Ich habe die vorliegende Dissertation weder in der vorliegenden, noch in einer ähnlichen Form bei einer anderen Institution eingereicht.

Düsseldorf im Oktober 2009

Jennifer Reipen

Lebenslauf**Jennifer Reipen****Persönliche Angaben**

Geburtsdatum/ -ort	05.08.1982 in Neuss (D)
Familienstand	ledig
Eltern	Horst Reipen (Dipl. Ingenieur Elektrotechnik) Brunhilde Reipen (Dipl. Verwaltungswirtin)

Ausbildung

1989-1993	Katholische Grundschule Noithausen (D)
1993-1999	Pascal-Gymnasium Grevenbroich (D)
1999-2000	Banks High School (Oregon, USA)
2000	US-High-School Diploma
2000-2002	Pascal-Gymnasium, Grevenbroich (D)
2002	Allgemeine Hochschulreife
2002-2008	Medizinstudium an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
2004	Physikum (1. Ärztliche Prüfung)
2007-2008	Praktisches Jahr: 1. Tertial: Innere Medizin, Uniklinik Düsseldorf (D) 2. Tertial: Gynäkologie und Geburtshilfe, Kantonsspital Baden (CH) 3. Tertial: Chirurgie, Kantonsspital Baden (CH)
Herbst 2008	2. Ärztliche Prüfung
Seit 01.01.2009	Assistenzärztin in der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe HELIOS Klinikum Krefeld

Famulaturen

-
- Ultraschallambulanz St. Joseph-Krankenhaus Haan (D)
 - Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe Florence-Nightingale-Krankenhaus Kaiserswerth (D)
 - Klinik für Anästhesie und Intensivmedizin Kreiskrankenhaus Grevenbroich (D)
 - Klinik für Unfall- und Handchirurgie Uniklinik Düsseldorf (D)
 - Klinik für Kinderradiologie Uniklinik Düsseldorf (D)

Tätigkeiten neben dem Studium

2003- 2007	Studentische Aushilfe in der Krankenpflege Marienhospital Düsseldorf (D)
Seit 2003	Tutorin in der AG Medizindidaktik der HHU-Düsseldorf (für Ultraschall-, FKDS-, und Röntgen-Thorax-Kurse für Ärzte und Studenten)
Seit 2006	Verschiedene Dozententätigkeiten an der HHU Düsseldorf (u.a. Tischdozentin im anatomischen Präparierkurs, Didaktiktrainings)

Sprachkenntnisse

Englisch, Latein (Latinum), Französisch (Schulkenntnisse)

Hobbies

Tauchen, Reiten, Wandern, Klarinette spielen

Düsseldorf im Oktober.2009

Jennifer Reipen