

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

**Untersuchungen zum Einfluss des Leukozyten - Inhibitions - Moduls auf die
posthämorrhagische Hämodynamik im Tiermodell**

Dissertation

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

vorgelegt von

Ingo Witte

2010

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

Gez.: Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf
Dekan

Referent: Prof. Dr. Windolf

Korreferent: Prof. Dr. Kindgen-Milles

Inhaltsverzeichnis

1. Abkürzungsverzeichnis	5
2. Zusammenfassung.....	7
3. Einleitung	9
3.1. Thema	9
3.2. Medizinische Notwendigkeit	9
3.3. Aktuelle Therapieansätze bei posttraumatischer SIRS und Sepsis.....	10
3.3.1. Kreislauftherapie.....	11
3.3.2. Beatmung:.....	11
3.3.3. Antibiotikatherapie/ Herdsanierung:	12
3.3.4. Blutgerinnung:	12
3.3.5. Ausscheidung:.....	12
3.3.6. Blutzuckereinstellung:.....	13
3.3.7. Versuche zur Immunmodulation bei SIRS:.....	13
3.4. Rolle der neutrophilen Granulozyten bei systemischer Inflammation	14
3.5. LIM (Leukozyten - Inhibitions - Modul).....	18
3.6. Ziele der Arbeit.....	20
3.6.1. Aufbau eines hämorrhagischen Schockmodells zur Untersuchung der posthämorrhagischen Hämodynamik im Schwein	20
3.6.2. Überprüfung des Einflusses des LIM auf die Hämodynamik nach hämorrhagischem Schock	20
3.6.3. Überprüfung des Einflusses des LIM auf den Säure - Basen - Haushalt und die Sauerstoffsättigung nach hämorrhagischem Schock im Tiermodell	21
4. Material und Methoden.....	22
4.1. Versuchsbedingungen und Arbeitsaufteilung	22
4.2. Die Versuchstiere	23
4.3. Narkoseeinleitung und OP - Vorbereitung	24
4.4. Narkose	25
4.5. Katheteranlage	26
4.5.1. Suprapubischer Blasenkatheter.....	26
4.5.2. Shaldon - Katheter	26
4.5.3. Arterieller Katheter.....	27
4.5.4. Swan & Ganz - Katheter	27
4.6. LIM - System.....	28
4.7. Versuchsablauf	30
4.8. Messungen während des Versuches	31
4.9. Nachbeobachtung	32
4.10. Sektion	33
4.11. Messungen	34
4.12. Materialliste	35
5. Ergebnisse.....	37
5.1. MAP und Herzfrequenz im Überblick.....	37
5.2. Herzfrequenz	39
5.3. mittlerer arterieller Druck	42
5.4. gemischtvenöse Sauerstoffsättigung.....	44

Inhaltsverzeichnis

5.5.	Herzminutenvolumen	46
5.6.	pH - Wert	48
5.7.	Base Excess	50
5.8.	Lactat	52
5.9.	Temperatur.....	54
6.	<i>Diskussion</i>	56
6.1.	Überblick	56
6.2.	Theorie.....	56
6.3.	Modell.....	58
6.4.	Statistische Auswertung	60
6.5.	Vorliegende Ergebnisse.....	61
6.5.1.	Hämodynamik.....	61
6.5.2.	mittlerer arterieller Druck	61
6.5.3.	Herzzeitvolumen.....	63
6.5.4.	gemischtvenöse Sauerstoffsättigung.....	64
6.5.5.	Herzfrequenz und Hämodynamik	65
6.5.6.	Säure - Basen - Haushalt.....	66
6.5.7.	Temperatur.....	67
6.6.	Zusammenfassung	69
6.6.1.	Ziele der Arbeit.....	72
7.	<i>Referenzen</i>	74
8.	<i>Curriculum vitae</i>	84
9.	<i>Danksagung</i>	85

1. Abkürzungsverzeichnis

° C	Grad Celsius
Abb.	Abbildung
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrom
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BE	Base Excess
BGA	Blutgasanalyse
BPM	Beats per Minute (Schläge pro Minute)
ca.	cirka
CD	Cluster of Differentiation (Zelloberflächengene)
CO ₂	Kohlendioxid
CPAP	Continous Positive Airway Pressure
DIC	Disseminated Intrvassal Coagulation (disseminierte intravasele Gerinnung)
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EGDT	Early Goal Directed Therapy
EKG	Elektrokardiogramm
G - CSF	Granulozyten - Colony Stimulating Factor
GM - CSF	Granulozyten / Makrophagen - Colony Stimulating Factor
h	Stunde(n)
HF	Herzfrequenz
HZV	Herz Zeit Volumen l/min
l / min	Liter pro Minute
LIM	Leukozyten - Inhibitions – Modul
MAP	Mean Arterial Pressure (arterieller Mitteldruck)

Abkürzungsverzeichnis

min	Minute (n)
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mmol / l	Millimol pro Liter
MOF	Multiple Organ Failure (Multiorganversagen)
MPAP	Mean Pulmonal Arterial Pressure
n	Anzahl der Messungen
O ₂	Sauerstoff
OP	Operation
PCWP	Pulmonal Capillary Wedge Pressure (pulmonalkapillärer Verschlussdruck)
S / min	Schläge pro Minute
SIRS	Systemisches Inflammatorisches Response Syndrom
SMC	Standard Medical Care
U	Unit
z.B.	zum Beispiel
ZVD	Zentral Venöser Druck

2. Zusammenfassung

Obwohl die Versorgung von polytraumatisierten Patienten in letzter Zeit erfolgreich weiterentwickelt wurde, kommt es immer wieder vor, dass im Verlauf nach einem schweren Trauma eine überschießende Immunantwort stattfindet, die die ausgewogene Funktion des Immunsystems beeinträchtigt. Hieran sind die neutrophilen Granulozyten (PMN) maßgeblich beteiligt. Es kommt zur Ausschüttung von Sauerstoffradikalen und proteindegradierenden Enzymen, die Organfunktionsstörungen oder auch Permeabilitätserhöhungen der Gefäße zur Folge haben können. Hierdurch entstehen häufig auch hämodynamische Dysregulationen. Um die überschießende Immunantwort der neutrophilen Granulozyten zu verhindern wurde das Leukozyten - Inhibitions - Modul (LIM) entwickelt. Es handelt sich hierbei um einen Polyurethanschaum, der mit anti FAS (CD 95/APO 1) Antikörpern beschichtet ist. Diese induzieren, bei Kontakt mit neutrophilen Granulozyten, eine Inaktivierung innerhalb von Minuten und im späteren Verlauf die Apoptose der neutrophilen Granulozyten. Dieses Verfahren wurde bereits im kardiochirurgischen Bereich erfolgreich getestet, um die inflammatorische Reaktion im Rahmen von Bypassoperationen zu minimieren. Um die Funktion des LIM bei posthämorrhagischer Inflammation zu überprüfen, wurde ein MAP - kontrolliertes hämorrhagisches Schockmodell an Schweinen entwickelt, bei dem im Anschluss an den Schock das LIM - System mittels extrakorporaler Zirkulation zum Einsatz kam. Ziel der Untersuchung war es, das hämorrhagische Schock / Reperfusions - Modell zu etablieren und die posthämorrhagische Hämodynamik, Blutgase, und Stressmarker der LIM - Gruppe mit der SMC - Gruppe (Standard Medical Care-Gruppe) zu vergleichen.

Zusammenfassung

Es konnte gezeigt werden, dass durch Etablierung des vorliegenden Schockmodells eine inflammatorische Reaktion bei den Versuchstieren induziert wurde und so die Grundlage zur Überprüfung der Funktion des LIM in der Situation der posthämorrhagischen Inflammation geschaffen wurde.

Außerdem konnte gezeigt werden, dass der Einsatz des LIM keine negativen Auswirkungen auf die Hämodynamik, die Blutgase, und die Stressmarker in der Nachbeobachtungszeit hatte. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass die posthämorrhagische Hämodynamik 72 h nach Schock in der LIM - Gruppe in Teilbereichen signifikant besser war als in der SMC - Gruppe.

Diese Erkenntnisse lassen darauf hoffen, dass diese neuartige Form der Immunmodulation zukünftig hilft, eine pathologische Immunreaktion nach schweren Traumata mit hohem Blutverlust zu mildern.

3. Einleitung

3.1. Thema

Im Folgenden soll ein neuer therapeutischer Ansatz zur Immunmodulation bei posthämorrhagischer SIRS untersucht werden. Hierzu wurde ein hämorrhagisches Schockmodell an Schweinen etabliert und eine Immunmodulation der neutrophilen Granulozyten mittels extrakorporaler Blutzirkulation während der posthämorrhagischen Phase durchgeführt. Es erfolgte eine Inaktivierung der neutrophilen Granulozyten durch Kontakt mit anti FAS (CD 95/APO 1) Antikörpern. Die Durchführung der Versuche fand in einer Arbeitsgruppe statt. Es wurden unterschiedliche Aspekte der Immunmodulation untersucht. Die Untersuchung beinhaltete den Einfluss des LIM (Leukozyten - Inhibitions - Modul) auf die posthämorrhagische Entwicklung der Anzahl der neutrophilen Granulozyten, Lymphozyten und Leukozyten (81, Ott, 2010), Veränderungen im Gewebe (81, Ott, 2010) enzymatische Veränderungen wie beispielsweise Hämoxygenase und Lipidperoxidation (94, Schek, 2010) und, wie in dieser Arbeit beschrieben, auf die posthämorrhagische Hämodynamik, die Sauerstoffsättigung und den Säurebasenhaushalt.

3.2. Medizinische Notwendigkeit

In Deutschland starben 2007 30650 Menschen an Verletzungen, Vergiftungen und bestimmten anderen Folgen äußerer Ursachen, wovon ein erheblicher Teil der Todesfälle auf die Auswirkungen eines SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome) zurückzuführen ist. 6507 Menschen sind 2007 in Deutschland an den Folgen einer nicht näher bezeichneten Sepsis verstorben (104,

Einleitung

Statistisches Bundesamt, 2008). Hämorrhagischer Schock mit konsekutiver Hypotension führt in 54% der Fälle zum Tod. Fast 50% der Patienten mit großem Blutverlust sterben innerhalb der ersten 24 h. Die Überlebenden haben ein hohes Risiko für Infektionen und Organversagen (56, Heckbert, et al., 1998). Es ist bekannt, dass der hämorrhagische Schock zu verschiedenen Störungen führen kann. Zum einen können „First Hit“-Ereignisse wie Hypoxie, Hypotension, Organ- und Gewebeerstörung direkt zu schwerwiegenden Organfunktionsstörungen führen, andererseits können nach schweren Traumata „Second Hit“-Ereignisse wie beispielsweise Ischämie / Reperfusionsschäden, operative Interventionen, Infektionen oder Kompartiment - Syndrome, zu Immunstörungen wie SIRS (systemic inflammatory response syndrome), multiplen Organfunktionsstörungen (MODS) und multiplen Organversagen (MOF) führen (69, Lenz, et al., 2007). SIRS und Sepsis sind eine häufige Todesursache mit einer sehr hohen Sterblichkeitsrate bei den Betroffenen (7, Angus, et al., 2001; 8, Angus, et al., 2006; 10, Audebert, et al., 2007; 102, Shibata and Funada, 2004). Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit weitere Therapieansätze zu testen, um in Zukunft die Überlebenschancen dieser Patienten mit akuten Immunstörungen zu verbessern.

3.3. Aktuelle Therapieansätze bei posttraumatischer SIRS und Sepsis

Zurzeit sind im klinischen Alltag fast ausschließlich symptomatische Strategien zur Therapie dieser Erkrankungen etabliert.

3.3.1. Kreislauftherapie

Eine frühzeitige und strikte Optimierung der kardiozirkulatorischen Funktion senkt die Sterblichkeit von Patienten mit schwerer Sepsis und septischem Schock („early goal directed therapie“ EGDT) wie kürzlich gezeigt wurde (88, Rivers, et al., 2001).

Als effektiver Parameter zur Beurteilung der kardiopulmonalen Zirkulation erwies sich dabei die kontinuierlich gemessene zentralvenöse Sauerstoffsättigung (ScvO₂). Diese sollte bei mindestens 70% liegen. Hierbei sollte zusätzlich ein ZVD zwischen 8 und 12 mmHg, ein arterieller Mitteldruck von über 65 mmHg und eine Urinausscheidung von mehr als 0,5 ml / kg / h erreicht werden. Kann dieses Ziel mittels Katecholamintherapie und Volumensubstitution nicht erreicht werden, wird der Hämatokrit mittels Bluttransfusion auf 30 % angehoben. Durch diese Maßnahme konnte die 28 - Tage - Letalität der betroffenen Patienten statistisch signifikant gesenkt werden (88, Rivers, et al., 2001).

3.3.2. Beatmung:

Die Lunge wird durch Atemunterstützung entlastet und somit versucht die Oxygenierung des Blutes zu verbessern. Bei vielen Patienten mit schwerer Sepsis tritt ein akutes Lungenversagen (acute respiratory distress syndrome, ARDS) als Folge eines infektionsortfernen Organversagens auf (11, Balk, 2000). Es hat sich gezeigt, dass bei kontrollierter Beatmung mit geringen Atemzugvolumina (6 ml/kg Körpergewicht) die Sterblichkeitsrate gesenkt werden konnte im Vergleich zu Patienten, die mit 12 ml/kg Körpergewicht beatmet wurden (88, Rivers, et al., 2001). Wenn möglich, wird die Atmung den Patienten überlassen und gegebenenfalls durch „continuous positive airway pressure“ (CPAP) unterstützt. Hierdurch kann die Bildung von minderbelüfteten Arealen vermindert werden (28, Cotev, et al., 1976).

3.3.3. Antibiotikatherapie/ Herdsanierung:

Bei ersten Anzeichen einer systemischen Entzündung erfolgt eine erregerkalkulierte Antibiotikatherapie, um den Herd der Entzündung zu eliminieren. Dies wird teilweise auch mit chirurgischen Eingriffen unterstützt (65, Kollef, et al., 1999; 123, Young, et al., 1977).

3.3.4. Blutgerinnung:

Die Blutgerinnung wird durch Gabe von Blutprodukten wie Fresh Frozen Plasma, Thrombozytenkonzentraten oder Gerinnungsfaktoren unterstützt. Es wird außerdem eine Thromboseprophylaxe mit Heparin durchgeführt, was einer „Disseminierten Intravasalen Gerinnung“ (DIC) entgegenwirken soll (2, 2001).

Als Medikament wird zur Zeit rekombinantes, humanes, aktiviertes C - Protein eingesetzt. Das C - Protein ist ein Vitamin - K - abhängiges Protein, welches in der Leber synthetisiert wird. Im Blutplasma bildet es einen Komplex mit Protein S und bewirkt die Hemmung der Gerinnungsfaktoren. In der Sepsistherapie wird es als natürlicher Gerinnungsblocker eingesetzt. Hierdurch soll eine „Disseminierte Intravasale Gerinnung“ verhindert werden (42, Fourrier, 2004).

3.3.5. Ausscheidung:

Die Ausscheidung wird durch Diuretika kontrolliert. Bei Auftreten einer Anurie erfolgt die Durchführung einer Hämodialyse, bei der die Möglichkeit besteht, den Volumenstatus des Patienten gegebenenfalls zu korrigieren. Hierbei kann auch Einfluss auf die Homöostase des Säurebasenstatus genommen werden (118, Wheeler and Bernard, 1999).

3.3.6. Blutzuckereinstellung:

Falls notwendig wird eine intensivierete Insulintherapie durchgeführt. Es hat sich gezeigt, dass die Wundheilung und die Sauerstoffsättigung im Gewebe bei Blutzuckerwerten im Normbereich (80 - 120 mg / dl) deutlich verbessert sind (86, Reinhardt, 2003).

3.3.7. Versuche zur Immunmodulation bei SIRS:

Es gab Bestrebungen, bei Patienten mit SIRS und Sepsis die Überaktivierung des Immunsystems mit Hilfe systemischer Applikation von Kortisol zu vermindern. Allerdings waren diese Bemühungen leider wenig erfolgreich. Die Mortalität der behandelten Patienten stieg im Vergleich zu den nicht behandelten Patienten. Im Rahmen dieser Studie wurden 10008 Patienten untersucht und es zeigte sich eine erhöhte Mortalität bei Verabreichung von Kortikosteroiden (21,1 %) im Gegensatz zum Placebo (17,9 %) (16, Bracken, 2005; 68, Lefering and Neugebauer, 1995; 90, Roberts, et al., 2004).

Ferner gab es Versuche mit CD 18 Antikörpern. Es konnte in einem Sepsismodell eine Reduktion der durch neutrophile Granulozyten verursachten, vaskulären Schäden gezeigt werden. Allerdings konnten diese Ergebnisse in klinischen Studien an polytraumatisierten Patienten nicht nachvollzogen werden (19, Brown, et al., 2001; 121, Xu, et al., 2002).

Weiterhin wurde nachgewiesen, dass anti - Integrin Antikörper neutrophile Granulozyten, die bereits an Endothelien anhaften, von diesen wieder lösen können (49, Granger and Kubes, 1994). Auch hieraus konnte noch kein klinisch etabliertes Verfahren entwickelt werden.

Die therapeutische Aphaese ist eine weitere Möglichkeit einer Immunmodulation, die bereits experimentell getestet wurde. Ziel ist es, das Blut von unerwünschten

Einleitung

Bestandteilen zu befreien. Hierbei werden nur bestimmte Blutbestandteile herausgefiltert, um eine Modulation des Immunsystems zu erreichen. Teile des Blutes, die nicht entzogen werden müssen, werden dem Spender wieder zugeführt. Dieses System wird genutzt, um Toxine und Zytokine aus dem Körper abzureichern. Ein neuartiges Verfahren unter Verwendung neutrophiler Granulozyten - Zelllinien befindet sich zur Zeit in der klinischen Testphase. Tiermodelle an Schweinen zeigten schon erfolgreiche Ergebnisse (77, Mitzner, et al., 2001).

Ein weiterer Ansatz ist es, die Signalwege, die die Homöostase der Inflammation aufrechterhalten, von denen zu differenzieren, die die neutrophilen Granulozyten zu einer Gewebeschädigung veranlassen (106, Strassheim, et al., 2002). Dieses Konzept verfolgt auch das LIM - System (wie unter 3.5 beschrieben). Es wurde empfohlen, die Therapie der systemischen Inflammation bereits vor Eintreten ihrer Folgen einzuleiten (18, Brown, et al., 2006).

Nach aktuellem Kenntnisstand gibt es derzeit kein etabliertes Verfahren, das eine Immunmodulation während systemischer Inflammation bzw. Immunfehlregulation bietet.

3.4. Rolle der neutrophilen Granulozyten bei systemischer Inflammation

Neutrophile Granulozyten haben primär die Funktion, Bakterien abzuwehren. Sie enthalten hierzu eine verhältnismäßig große Menge an proteolytischen Enzymen und sind in der Lage, Sauerstoffradikale zu bilden und auszuschütten. Somit sind die neutrophilen Granulozyten auf komplexe Art und Weise in das Immungeschehen eingebunden (18, Brown, et al., 2006). Neutrophile Granulozyten werden im Knochenmark gebildet, von dort aus in die Blutbahn ausgeschüttet und zirkulieren dort 12 - 14 h (101, Segal, 1995). Die Ausschüttung, Reifung und Aktivierung wird

Einleitung

unter anderem von Granulozyten - Colony - Stimulierenden Faktoren (G - CSF) und Granulozyten / Makrophagen - Colony - Stimulierenden Faktoren (GM - CSF) geregelt (70, Lieschke, et al., 1994). Die neutrophilen Granulozyten können durch verschiedene Zytokine aktiviert oder inaktiviert und zu einer stark verlängerten Überlebenszeit veranlasst werden (67, Lee, et al., 1993). Bei gesunden Personen ist die G - CSF Konzentration im Blut niedrig, steigt bei Inflammation um ein Mehrfaches an und zieht eine Erhöhung der Granulozytenzahl im Blut nach sich (108, Tanaka, et al., 1996). Es entstand die Vermutung, dass neutrophile Granulozyten bei systemischen Inflammationsreaktionen auch einen schädlichen Einfluss auf körpereigene Gewebe haben. Es wurde die Wirkung von Leukozytendepletion bei Patienten mit systemischer Inflammation getestet, wobei sich bei den Patienten mit weniger Leukozyten im Blut eine verbesserte Lungen - und Nierenfunktion zeigte (111, Treacher, et al., 2001). Beim akuten respiratorischen Distress Syndrom (ARDS), welches häufig Inflammationsreaktionen begleitet, konnte die Intensität der Infiltration der Lunge durch neutrophile Granulozyten mit der Beeinträchtigung der Lungenfunktion und auch die Konzentration an proteolytischen Enzymen, die aus neutrophilen Granulozyten stammen, mit der Beeinträchtigung der Lungenfunktion korreliert werden (119, Windsor, et al., 1993).

Neutrophile Granulozyten können in 3 Stadien vorliegen. Ruhend oder unstimuliert, stimuliert (bereits mit einem mikrobiellen oder inflammatorischen Agonisten zusammengetroffen, was zu einer Herabsetzung der Schwelle zum Übertritt in den aktivierten Status führt), oder aktiviert (in diesem Stadium nehmen die Zellen eine bestimmte Funktion ein und führen diese aus). Der Übergang vom ruhenden in das aktivierte Stadium erfolgt über eine Signalkaskade aus beispielsweise C5a, Lipopolysacchariden und Cytokinen (30, Daniels, et al., 1992; 53, Guthrie, et al., 1984; 117, Ward, 2004). Auf ihrer Oberfläche exprimieren die neutrophilen

Einleitung

Granulozyten, je nach Aktivierungszustand, unterschiedliche Moleküle (13, Bernard, et al., 2001; 60, Ibbotson, et al., 2001). Das kann dann günstig sein, wenn die neutrophilen Granulozyten erst am Ort der Infektion aktiviert werden und daraufhin ihre proteolytische und sauerstoffradikalbildenden Effekte ausüben. Werden sie jedoch bereits aktiviert, wenn sie noch dem Endothel anhaften, kann dies zu Schäden der Gefäßwände führen (120, Wyman, et al., 2002). Die genauen Zusammenhänge sind bis heute nicht vollständig geklärt. Einige wesentliche Mechanismen sind jedoch bekannt, die die beschriebenen Funktionen unterstützen. Im Blut befindliche neutrophile Granulozyten werden über Selektine dazu gebracht, das Zentrum des Blutstromes zu verlassen, um die etwas langsamere Strömung am Rand dazu zu nutzen, mit dem Endothel in Kontakt zu treten. Durch so genanntes „Rolling“ am Endothel wird Kontakt zu den Integrinen hergestellt, die eine feste Adhäsion der neutrophilen Granulozyten am Endothel bewirken (48, Gonzalez-Amaro and Sanchez-Madrid, 1999; 76, McGill, et al., 1996; 91, Rosenbloom, et al., 1999). Ein weiterer Baustein in der Funktion der neutrophilen Granulozyten ist die Fähigkeit zur Chemotaxis. Im Bezug auf die Migration der neutrophilen Granulozyten in verschiedenen Situationen, wie beispielsweise der Sepsis, gibt es widersprüchliche Studienergebnisse. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass bei ARDS - Patienten eine große Zahl neutrophiler Granulozyten das Lungengewebe infiltriert und die Konzentration von Interleukin 8 in der Flüssigkeit aus diagnostischer Bronchiallavage (BAL) mit der Mortalität dieser Patientengruppe korreliert (31, Donnelly, et al., 1993). Außerdem konnte gezeigt werden, dass erhöhte intravasale Interleukin - 8 - Konzentrationen, wie sie im Rahmen einer Sepsis zu finden sind, eine verminderte Migration in das Zielgewebe hervorrufen. Stattdessen bleiben die neutrophilen Granulozyten am Endothel anhaften und üben dort ihre schädigenden Wirkungen aus. Durch die daraus folgende Kumulation der neutrophilen

Einleitung

Granulozyten in diesem Bereich kommt es zu einer Sequestration und auch zu mikrovaskulären Verschlüssen. Hierdurch kann es zu einer Hypoxie in den zu versorgenden Gewebeabschnitten kommen und es entstehen konsekutiv Gewebsnekrosen (9, Astiz, et al., 1995; 39, Fink and Evans, 2002). In die Lunge gelangen die neutrophilen Granulozyten durch erhöhte Konzentrationen von IL - 8 im Rahmen einer Inflammation. Sie bilden Sequester aus und erhöhen die Permeabilität der Endothelien durch ihre zellschädigenden Wirkungen, was zu einem Lungenödem mit zellreichem Exsudat führt. Daraufhin kommt es zu einer alveolären Erosion und einer Zerstörung der Basalmembranen. Folgen hiervon sind Hypoxie, Tachypnoe und eine respiratorische Alkalose (83, Paterson and Webster, 2000).

Ihre zerstörerische Wirkung üben die neutrophilen Granulozyten durch die Ausschüttung von Enzymen wie beispielsweise Lysozym, Myeloperoxidase, Elastase, Collagenase, Lactoferrin und Cathepsin b aus. Zusätzlich nehmen sie mehr Sauerstoff als in ruhendem Zustand auf (oxidative burst), bilden Sauerstoffradikale, die sie in die Umgebung ausschütten, und können so Bakterien, aber auch körpereigenes Gewebe schädigen oder zerstören (17, Brown, 1994). In aktiviertem Zustand sind diese Funktionen verstärkt zu beobachten.

Zusammenfassend kann man sagen, dass die ursprüngliche Funktion der neutrophilen Granulozyten, Bakterien zu zerstören, unter Bedingungen einer Inflammationsreaktion fehlgeleitet wird. Durch die unspezifischen Abwehrmechanismen der neutrophilen Granulozyten werden die Effektormechanismen auch gegen körpereigenes Gewebe gerichtet. Dies geschieht aufgrund der besonderen Signalsituation im Rahmen einer Inflammation. Aufgrund dieser Erkenntnisse wurde mehrfach vorgeschlagen, neutrophile Granulozyten als Ziel einer Immunmodulation zur Verbesserung der Überlebenschancen bei systemischen Inflammationsreaktionen zu testen (18, Brown, et al., 2006).

3.5. LIM (Leukozyten - Inhibitions - Modul)

Kürzlich wurde ein immunmodulatorisches Verfahren entwickelt, welches die neutrophilen Granulozyten beeinflussen soll (95, Scholz and Cinatl, 2005). Es ist bekannt, dass über die Fas / FasL (APO - 1/ APO - 1L; CD95 / CD95L) Signalkaskade unter anderem die Lebenszeit neutrophiler Granulozyten geregelt wird und dass bei Störungen im Fas/FasL System neutrophile Granulozyten länger überleben und zu Gewebeschäden führen können (4, Albelda, et al., 1994; 93, Scheel-Toellner, et al., 2004). Störungen im Fas / FasL - System sind an verschiedenen Immunfehlregulationen beteiligt, die eine Hyperaktivierung des Immunsystems als Ursache haben. In diesem Zusammenhang sind unter anderem SIRS und MODS bei polytraumatisierten Patienten (105, Stegmayr, 2001) und das Ischämie / Reperfusionssyndrom zu nennen (26, Chou, et al., 2004; 122, Yang, et al., 2003). Es gibt viele weitere Immunfehlregulationen, an denen das Fas / FasL - System maßgeblich beteiligt ist. Unter anderem der lange und intensive Fremdmaterialienkontakt bei extrakorporaler Zirkulation im Rahmen von Bypassoperationen (95, Scholz and Cinatl, 2005). Aufgrund dieser Erkenntnisse wurden Versuche unternommen, die agonistischen anti - Fas Antikörper (FasL) systemisch zu applizieren. Hierbei zeigte sich, dass dies zu starken Nebenwirkungen wie Hepatotoxizität (79, Ogasawara, et al., 1993) und Lungenfibrose (54, Hagimoto, et al., 1997) führt, sodass diese Bestrebungen wieder verworfen wurden. Seit einiger Zeit ist bekannt, dass hyperaktivierte neutrophile Granulozyten, die an membrangebundene FasL binden, innerhalb von Minuten inaktiviert werden und erste Apoptosezeichen zeigen (27, Cinatl, et al., 2000; 50, Greenstein, et al., 2000; 78, Moreno, et al., 2004). Hieraus entstand die Idee, mittels extrakorporaler Zirkulation die neutrophilen Granulozyten mit den entsprechenden Antikörpern in

Einleitung

Kontakt zu bringen (95, Scholz and Cinatl, 2005). Hierzu wurde nach einiger Forschungsarbeit ein offenporiger Polyurethanschaum entwickelt, der mit kürzlich entwickelten immobilisierten anti - Fas - IgM Antikörpern beschichtet ist (61, Ichikawa, et al., 2000; 66, Kuwahara, et al., 2001; 75, Matsuno, et al., 2002; 98, Scholz, et al., 2004). Da die Antikörper kovalent auf dem PU - Schaum gebunden sind, wird verhindert, dass sie eine systemische Wirkung wie die oben beschriebene Hepatotoxizität und Lungenfibrose verursachen (96, Scholz, et al., 2005). Außerdem wird ermöglicht, dass die neutrophilen Granulozyten mit den Antikörpern in Kontakt treten und hierdurch inaktiviert werden und in inaktivem Zustand wieder in den systemischen Kreislauf eintreten können. Durch die Inaktivierung soll verhindert werden, dass die neutrophilen Granulozyten ihre schädigenden Effekte (wie unter 3.4 beschrieben) ausüben, und eine ungerichtete überschießende Immunantwort ausgelöst wird.

Dieses Modul zur Immunmodulation mit dem Ziel der Reduktion der inflammatorischen Aktivität wurde bereits in einer klinischen Studie an herzchirurgischen Patienten, bei denen eine Bypassoperation mit Einsatz einer Herz - Lungen - Maschine durchgeführt wurde, getestet (98, Scholz, et al., 2004). Patienten, die an die Herz - Lungen - Maschine angeschlossen wurden, zeigen eine Aktivierung des Immunsystems. Dies ist auf den Kontakt der immunkompetenten Zellen im Blut mit dem Fremdmaterial der Herz - Lungen - Maschine oder dem Membranoxygenator zurückzuführen. Fremdmaterialkontakt induziert eine Aktivierung der neutrophilen Granulozyten. Diese Aktivierung zu beschränken wurde durch den Einsatz des Leukozyten - Inhibitions - Moduls (LIM) versucht. Der antikörperbeschichtete Polyurethanschaum wurde in einem kleinen Gehäuse in den extrakorporalen Blutkreislauf einer Herzlungenmaschine integriert. Es zeigte sich,

dass auch im Rahmen einer klinischen Studie nicht nur eine apoptotische Reaktion durch den Kontakt der neutrophilen Granulozyten mit den Antikörpern hervorgerufen wurde, sondern die neutrophilen Granulozyten außerdem innerhalb von Minuten inaktiviert wurden (3, Abdel-Rahman, et al., 2007; 96, Scholz, et al., 2005; 98, Scholz, et al., 2004).

Im Rahmen des vorliegenden Modells wurden die beschichteten Polyurethanschäume in einem Silikontubus untergebracht, und mittels einer Dialysepumpe wurde eine extrakorporale Zirkulation etabliert (wie unter 4.5. beschrieben).

3.6. Ziele der Arbeit

3.6.1. Aufbau eines hämorrhagischen Schockmodells zur Untersuchung der posthämorrhagischen Hämodynamik im Schwein

Es soll ein Tiermodell zur Untersuchung der posthämorrhagischen Immunreaktion, Organfunktion und Hämodynamik im Schwein etabliert werden, bei dem es möglich ist, neue Verfahren zu untersuchen, die mittels extrakorporaler Zirkulation eine Immunmodulation hervorrufen sollen. Bisher ist kein vergleichbares Großtiermodell bekannt. Als zentrale Messparameter zur Einstellung des hämorrhagischen Schocks sollen Mittlerer Arterieller Druck (MAP) und Herzfrequenz (HF) dienen.

3.6.2. Überprüfung des Einflusses des LIM auf die Hämodynamik nach hämorrhagischem Schock

Es soll überprüft werden, ob die Anwendung des Leukozyten - Inhibitions - Moduls einen Einfluss auf die Hämodynamik nach hämorrhagischem Schock im Tiermodell hat. Hierzu soll der mittlere arterielle Druck (MAP), die Herzfrequenz (HF), das Herzminutenvolumen (HZV) im Verlauf ermittelt werden.

3.6.3. Überprüfung des Einflusses des LIM auf den Säure - Basen - Haushalt und die Sauerstoffsättigung nach hämorrhagischem Schock im Tiermodell

Es soll überprüft werden, ob die Anwendung des Leukozyten - Inhibitions - Moduls einen Einfluss auf den Säure - Basen - Haushalt und die Sauerstoffsättigung nach einem hämorrhagischen Schock im Tiermodell hat. Die herangezogenen Kriterien sollten auch im klinischen Alltag durchführbar sein.

4. Material und Methoden

4.1. Versuchsbedingungen und Arbeitsaufteilung

Die Arbeiten wurde in der Tierversuchsanlage der Heinrich - Heine - Universität Düsseldorf durchgeführt. Hier stand ein komplett ausgestatteter Operationstrakt zur Verfügung sowie die entsprechenden räumlichen und technischen Möglichkeiten zur durchführung der Versuche. Des weiteren konnte die tierärztliche Betreuung durch Herrn Dr. Sager gewährleistet werden.

Im Rahmen der Versuche wurden mehrere Teilaspekte untersucht, auf die eine Wirkung durch das LIM - System möglich ist. Die Arbeiten wurden durch die LIM - Arbeitsgruppe der Klinik für Unfall- und Handchirurgie der Heinrich Heine Universität Düsseldorf durchgeführt. Die Arbeiten wie operative Eingriffe, Blutentnahmen, Datenerfassung und Erfassung von Laborparametern wurden von der gesamten Arbeitsgruppe durchgeführt. Die Arbeitsgruppe setzte sich aus fünf Mitarbeitern zusammen deren Betreuung durch Dr. med. Tim Lögters gewährleistet wurde und deren Leitung Prof. Dr. phil. nat. M. Scholz hatte. Die Auswertung der jeweiligen Datensätze wurde von den einzelnen Mitarbeitern individuell vorgenommen.

Herr Alberto Schek beschäftigte sich mit der Auswertung des Einflusses des LIM - Systems auf die posthämorrhagische Inflammation und Gewebehypoxie durch Bestimmung von Lipidperoxidation, Hämoxygenase 1 und Hypoxie induziertem Faktor 1 a.

Frau Annina Ott führte Versuche posthämorrhagischen Aktivierung der neutrophilen Granulozyten durch. Hierzu wurden die Differentialblutbilder im Bezug auf

Material und Methoden

Leukozyten und neutrophile Granulozyten ausgewertet, sowie die Gewebeeinfiltration anhand von chloracetatesterasegefärbten Gewebeschnitten untersucht und die Interleukine 1 beta, 6, 8 und 10 sowie interferon gamma und der Tumornekrosefaktor alpha bestimmt.

Frau Jessica Baltes untersuchte die Entstehung von posthämorrhagischer Apoptose in verschiedenen Organen mithilfe der Bestimmung der Genexpression von den proapoptotischen Proteinen BAX und BCL X, sowie der Durchführung des „Tunel-Essays“ zur Identifizierung apoptotischer Zellen.

Frau Sarah Sadek untersuchte den Einfluss des Leukozyten - Inhibitions - Moduls auf die posthämorrhagische Gewebeschädigung hierzu wurden Serologische, histologische und elektronenmikroskopische Untersuchungen durchgeführt.

Die Ergebnisse dieser und der anderen Arbeiten wurde ausserdem in dem Artikel „Extracorporeal immune therapy with immobilized agonistic anti- Fas antibodies leads to transient reduction of circulating neutrophil numbers and limits tissue damage after hemorrhagic shock/resuscitation in a porcine model“ im Journal of Inflammation von T. Lögters et al publiziert.

4.2. Die Versuchstiere

Im Rahmen dieser Untersuchung wurden Münchener Miniaturschweine verwendet, eine speziell zu Versuchszwecken gezüchtete Schweinerasse, die durch Kreuzung des „Hanford - Minischweins“ mit dem „Columbianischen Portionsschwein“ entstand. Die Tiere wurden in der Tierversuchsanlage Düsseldorf gezüchtet und gehalten. Die Haltung erfolgte unter weitgehendem Ausschluss von Einflüssen, die zu Unregelmäßigkeiten im Verhalten, bei der Futtermittellieferung, oder im Tag / Nacht - Rhythmus, führen könnten. Einige Tage vor dem Versuch wurde das entsprechende Tier isoliert und in einer eigenen Box gehalten. Das Gewicht der

Material und Methoden

verwendeten Tiere lag bei $30,3 \pm 3,3$ kg. Es wurden 2 Gruppen untersucht. Eine so genannte Standard Medical Care Gruppe (SMC - Gruppe), bei der alle Zugänge angelegt wurden und ein hämorrhagischer Schock durchgeführt wurde, allerdings ohne einen extrakorporalen Kreislauf mit dem LIM - System zu etablieren. Die andere Gruppe (LIM - Gruppe) wurde genau wie die SMC - Gruppe allerdings mit Etablierung eines extrakorporalen Kreislaufes und Einsatz des LIM - Systems behandelt. Es wurden sowohl bei der SMC - Gruppe, als auch bei der LIM - Gruppe jeweils 4 weibliche und 8 männliche Tiere verwendet. Das Alter der Tiere lag zwischen 9 Monaten und 19 Tagen und 20 Monaten und 7 Tagen. Insgesamt wurden 33 Tiere operiert, von denen aufgrund der Einschlusskriterien nur 24 Tiere zur Auswertung gekommen sind. Die Einschlusskriterien waren Erreichung der Zielwerte im Bezug auf den Blutdruck während des hämorrhagischen Schocks, sowie das Ausbleiben von unerwünschten Einflussfaktoren. Beispielsweise hatte ein Tier eine Voroperation, bei einem weiteren lagen abnormal hohe Temperaturwerte schon zu Beginn des Versuches vor. Weitere Tiere wurden zur Etablierung des Modells benötigt. Als Kontrollgruppe wurden 5 weitere Tiere ohne Operation oder Einsatz des LIM - Systems zur histologischen Untersuchung verwendet.

4.3. Narkoseeinleitung und OP - Vorbereitung

Die Tiere wurden aus dem Stall auf eine eingezäunte Waage gebracht, und bekamen dort eine entsprechende Dosis Ketamin ($20\text{mg} / \text{kg KG}$) intramuskulär appliziert. Nach Wirkungseintritt wurden die Schweine unter Spontanatmung auf einem Rollwagen liegend in die OP - Schleuse gebracht. Dort erfolgte die Platzierung einer Venenverweilkanüle ($1,1\text{ mm}$) in die Ohrvene. Hierüber wurde die Narkose mit Azaperon (Stresnil $2\text{ mg} / \text{kg KG}$), Atropin, und Thiopental ($3 - 5\text{ mg} / \text{kg KG}$)

Material und Methoden

eingeleitet. Zur Intubation wurde ein Kautschuktubus mit 6 - 7 mm Durchmesser verwendet. Nach Lagekontrolle des Tubus wurde dieser unter Verwendung eines Beißschutzes aus Holz fixiert. Das Tier wurde nun in den OP - Bereich transportiert und dort auf dem OP - Tisch mittels Mullbinden in Rückenlage fixiert. Die Beatmung sowie der CO₂ - Sensor wurden nun an den Tubus angeschlossen. Die EKG - Elektroden wurden mit Klemmen an den Übergängen zu den Beinen befestigt. Nun wurde noch der zu operierende Bereich enthaart, um nach Ende des 1. Versuchsabschnittes den Wundverband sicher aufkleben zu können. Es wurde eine Rolle aus Zellstoff (ca. 5 cm Durchmesser) unter den Nacken gelegt, um den Zugang zum Operationsfeld zu erleichtern. Das Tier wurde mit jodhaltiger Desinfektionslösung an den OP - relevanten Stellen drei mal desinfiziert. Daraufhin erfolgte die sterile Abdeckung des Tieres mit OP - Tüchern und des Operationsbereiches an Hals und Unterbauch mit OP - Folie (Opsite Folie).

4.4. Narkose

Es wurde eine Narkose mit den volatilen Inhalationanaesthetika Isofluran und Lachgas durchgeführt. Zur Analgesie wurde einmalig 1 ml (7,5 mg) Piritramid verabreicht, was gegebenenfalls durch Fentanyl ergänzt wurde. Die Isoflurankonzentration wurde inspiratorisch auf etwa 1,0 bis 2,5 vol% eingestellt, je nach Narkosephase. Die Lachgaskonzentration betrug 60 - 70 %, der Sauerstoffanteil betrug bei 21 - 30 %.

Außerdem erhielten die Tiere eine 5 % ige Glucoselösung mit Inzolen, was mit 50 ml / h über die Ohrvene verabreicht wurde. Beatmet wurden die Tiere mit einer Frequenz von 10 - 15 /min, wobei das Atemzugvolumen zwischen 300 und 500 ml lag. Die Beatmung wurde anhand des endexpiratorischen CO₂ Gehaltes des Ausatemgases reguliert. Dieser wurde zwischen 36 und 44 mmHg eingestellt.

4.5. Katheteranlage

Nachdem alle Vorbereitungen zur Operation getroffen waren, wurde mit Anlage der Katheter begonnen. Alle weiteren Prozeduren bis zum Wundverschluss fanden unter sterilen Bedingungen statt. Die verwendeten Materialien wurden nach Größe und Beschaffenheit der artspezifischen Anatomie ausgesucht. Vor Anlage der Katheter wurden diese durch Befüllen mit NaCl - Lösung entlüftet.

4.5.1. Suprapubischer Blasenkatheter

Es wurde ein medianer Hautschnitt (ca. 5 cm) am Unterbauch ausgeführt und schichtweise unter subtiler Blutstillung in die Tiefe bis zum Peritoneum präpariert. Dieses wurde eröffnet und die Harnblase aufgesucht. Etwa zentral wurde eine Tabaksbeutelnaht an der Blase angelegt, in deren Mitte mit dem Blasenpunktionsset (Zystofix) punktiert wurde. Der Blasenkatheter wurde durch die Punktionsnadel in die Blase eingeführt. Dann wurde die Punktionsnadel unter Belassen des Blasenkatheters entfernt und dieser mittels der Tabaksbeutelnaht an der Blase fixiert. Nun wurde die Wunde schichtweise verschlossen und der Katheter nochmals an der Haut fixiert. Die Durchgängigkeit wurde überprüft und der Urinsammelbeutel angeschlossen.

4.5.2. Shaldon - Katheter

Es wurde ein ca. 10 - 15 cm langer medianer Hautschnitt am Hals durchgeführt und subkutan unter subtiler Blutstillung und Schonung neurovasculärer Strukturen nach lateral in die Tiefe präpariert. Hier wurde die Vena jugularis externa aufgesucht, freipräpariert und mit Gummizügeln angeschlungen. Nun wurde diese in Seldinger - Technik punktiert, dilatiert und ein 12 French Shaldon - Katheter über den Draht eingeführt. Es wurden alle 3 Schenkel des Katheters auf Aspirabilität und

Durchgängigkeit überprüft. Danach wurde der Katheter mittels Naht im subkutanen Fettgewebe fixiert.

4.5.3. Arterieller Katheter

Zur Anlage des arteriellen Katheters wurde nun zwischen den beiden Musculi sternocleidomastoidei hindurch präpariert und eine Arteria carotis interna aufgesucht. Diese wurde punktiert und mittels Seldinger - Technik ein arterieller Katheter eingeführt, auf Durchgängigkeit und Aspirabilität überprüft und mit einer Naht im subkutanen Fettgewebe fixiert. An diesen Katheter wurde nun das Anschlussstück zur kontinuierlichen arteriellen Blutdruckmessung befestigt. Jetzt wurde das Druckmesssystem an den Monitor (Siemens SC 9000) angeschlossen und kalibriert. Die Anzeige der arteriellen Druckkurve wurde überprüft.

4.5.4. Swan & Ganz - Katheter

Analog zur Anlage des Shaldon - Katheters. wurde die gegenüberliegende Vena jugularis externa präpariert. Das Gefäß wurde punktiert und ebenfalls mittels Seldinger - Technik zunächst dilatiert, bevor die Gefäßschleuse für den Swan & Ganz - Katheter in die Vene eingebracht wurde. Die Aspirabilität und die Durchgängigkeit sowie die Lage wurden kontrolliert und die Schleuse mit einer Naht im subkutanen Fettgewebe fixiert.

Der Katheter wurde mit den entsprechenden Anschlüssen zur Druckmessung, Sauerstoffsättigungs - und Herzminutenvolumenbestimmung verbunden. Diese wurden mit den Monitoren verbunden (Vigilance Monitor, Siemens SC 9000) und kalibriert. Jetzt wurde der Katheter über die Schleuse eingeführt. Sobald die Druckmessung an der Katheterspitze zeigte, dass sich der Katheter im rechten Vorhof befand, wurde der Ballon mit 1 ml Luft befüllt und der Katheter bis in die Pulmonalarterie vorgeschoben. Hierbei wurde die Lage des Katheters anhand der

Material und Methoden

Druckkurve, die an der Katheterspitze gemessen wurde, kontrolliert. Bei korrekter Lage zeigte sich eine deutliche Änderung der Blutdruckamplitude in der Pulmonalarterie. In dieser Position konnte der PCWP (pulmonal capillary wedge pressure) durch Aufblasen des Ballons an der Katheterspitze intermittierend gemessen werden. Die kontinuierliche Messung der gemischtvenösen Sauerstoffsättigung wurde nun noch durch eine gemischtvenöse Blutgasanalyse kalibriert. Daraufhin konnte die gemischtvenöse Sauerstoffsättigung anhand der Lichtabsorption des O₂-beladenen Hämoglobins kontinuierlich ermittelt werden. Es wurde mit der kontinuierlichen Messung des Herzzeitvolumens mittels Thermodilutionsmethode begonnen. Hierbei wird das Blut durch eine Wärmespirale am Swan & Ganz - Katheter erwärmt und durch Temperaturmessung des Blutes das Herzzeitvolumen bestimmt. Die Messung des Herminutenvolumens wurde alle 5 Minuten durchgeführt.

4.6. LIM - System

Hierbei handelt es sich um einen offenporigen Polyurethanschaum, der mit kovalent gebundenen anti-Fas Antikörpern beschichtet ist. Die beschichteten Schäume wurden speziell für diese Versuchsreihe hergestellt. Die Polyurethanschäume lagen in sterilen Silikonröhren vor (2 cm Innendurchmesser), die an beiden Seiten mit Luerlock - Anschlüssen versehen waren. Diese wurden mit Schlauchsystemen, die sonst bei Dialysepatienten zum Einsatz kommen, sowie Teilen von Transfusionssystemen zu einem Kreislaufsystem zusammengefügt, das eine Entlüftungskammer enthält und an den Shaldon - Katheter angeschlossen werden kann. Durch Integration eines Silikonschlauchstückes von 1 cm Außendurchmesser und 0,8 cm Innendurchmesser konnte eine Blutzirkulation von 300 ml / min in diesem Schlauchsystem mit einer Dialysepumpe erzeugt werden. Das System hatte ein

Material und Methoden

Innenvolumen von weniger als 70 ml. Es wurde nun mit NaCl geflutet, um es zu entlüften. Danach wurde es mit 70 ml NaCl befüllt, die mit 5000 I.E. Heparin versehen waren. So wurde bei dem Versuchstier eine effektive Antikoagulation vorgenommen und verhindert, dass das zirkulierende Blut innerhalb des LIM - System koaguliert. Das so vorbereitete System wurde an beiden Seiten verschlossen und bis zum Einsatz steril gelagert.

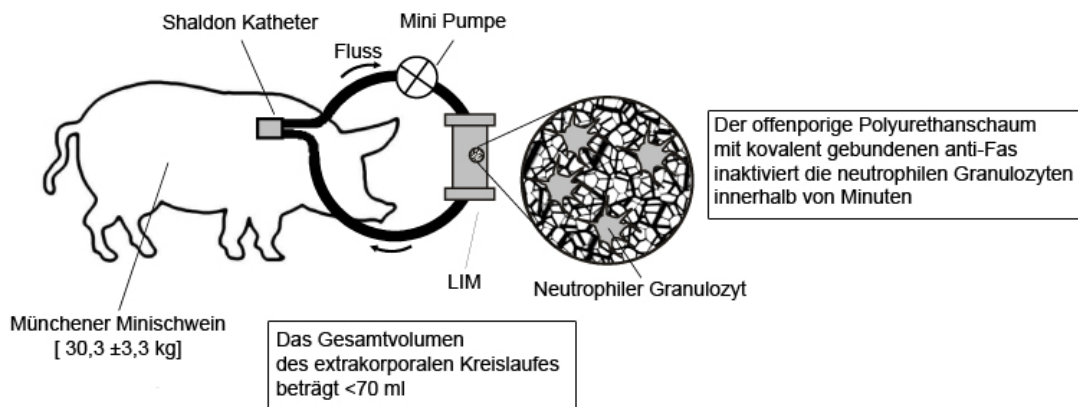


Abb. 1: Skizze des Extrakorporalen Kreislaufes des LIM - Systems



Abb. 2a: Extrakorporaler Kreislauf

Abb. 2b: Vorbereitung des LIM

4.7. Versuchsablauf

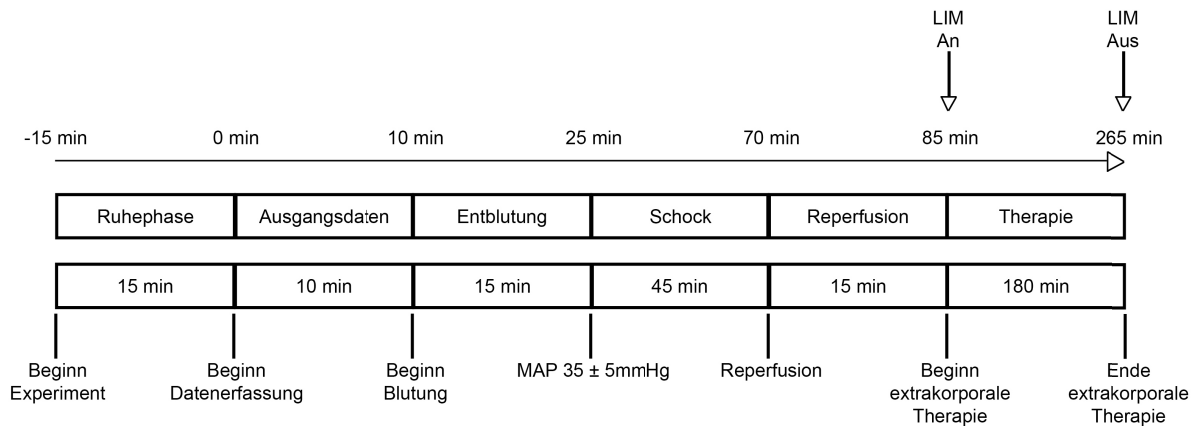


Abb. 3: Zeitverlauf des 1. Versuchstages

Die Tiere wurden nach Beendigung der Katheteranlage über 15 Minuten beobachtet und die entsprechenden Messwerte erfasst, eine Blutgasanalyse (BGA) vorgenommen und eine Blutentnahme durchgeführt. Jetzt wurde der hämorrhagische Schock durch Blutentnahmen aus dem Shaldon - Katheter eingeleitet. Die Senkung des MAP auf 35 ± 5 mmHg erfolgte innerhalb von 15 Minuten. Hierzu war die Entnahme von 300 - 600 ml Blut erforderlich. Danach wurde der Schock über 45 Minuten durch intermittierende Blutentnahmen mittels einer 50 ml Spritze aus dem Shaldon - Katheter aufrechterhalten. Um die Schockphase einzuleiten und konstant zu halten, waren Blutentnahmen von insgesamt 400 - 900 ml erforderlich.

Nun wurde der hämorrhagische Schock durch Reperfusion von Ringer - Lösung beendet. Die Ringerlösung wurde im Verhältnis 3/1 bis 4/1 bezogen auf das entnommene Blutvolumen reperfundiert. Die Reperfusion von ca. 2/3 des gesamten Reperfusionsvolumens erfolgte innerhalb von 15 Minuten. Danach wurde ca. 1/3 der gesamten Reperfusionsmenge bis zum Ende der Operation verabreicht. Jetzt wurde das LIM - System angeschlossen und die Dialysepumpe, die das Blut durch das LIM - System pumpt, wurde auf ca. 300 ml / min eingestellt. Das LIM - System blieb 3

Material und Methoden

Stunden in Betrieb, wobei bei der SMC - Gruppe kein extrakorporaler Kreislauf etabliert wurde. Es wurden während des gesamten Versuchs mehrere Blutentnahmen zu vorher festgelegten Zeitpunkten und alle 10 Minuten eine arterielle Blutgasanalyse durchgeführt. Die Proben wurden zum einen direkt vor Ort analysiert, ein weiterer Teil zur unmittelbaren Verarbeitung in das unfallchirurgische Forschungslabor und in das Zentrallabor der Universitätsklinik Düsseldorf gebracht. Nach Beendigung der Beobachtungszeit wurde das LIM - System ausgeschaltet, der zuführende Schenkel vom Shaldon - Katheter diskonnektiert. Nun wurde das im System verbliebene Blutvolumen dem Versuchstier wieder zugeführt und danach auch das andere Ende des LIM - Systems diskonnektiert. Der Shaldon - Katheter wurde mit NaCl - Heparinlösung gespült und verschlossen. Der arterielle Katheter wurde ebenfalls diskonnektiert, mit NaCl - Heparinlösung gespült und verschlossen. Die Katheter wurden in vorpräparierte Hauttaschen eingenäht und in situ belassen. Ein Schenkel des Shaldon - Katheters wurde zu intermittierenden Blutentnahmen ausgeleitet. Hiernach wurden die Wunden schichtweise mit Einzelknopfnähten verschlossen. Der ausgeleitete Schenkel des Shaldon - Katheters wurde mittels Naht fixiert. Die Narkose wurde durch Beendigung der Isofluran - und Lachgaszufuhr ausgeleitet. In dieser Phase wurde das Tier mit 100 % Sauerstoff beatmet. Bei ausreichend wiedergekehrten Schutzreflexen wurde das Schwein extubiert. Nun wurde das Versuchstier in die Stallungen gebracht. Hier wurden das Tier beobachtet, bis eine ausreichende Vigilanz gesichert war.

4.8. Messungen während des Versuches

Es wurde zuvor festgelegt, welche Messungen wie oft und zu welchem Zeitpunkt durchgeführt werden sollten.

Material und Methoden

Die hämodynamischen und respiratorischen Parameter wurden alle 5 Minuten über den gesamten Versuch erfasst. Alle 10 Minuten wurde Blut aus der Arteria carotis entnommen und direkt vor Ort eine Blutgasanalyse vorgenommen (BGA - Gerät Radiometer ABL 800 Flex). Zu bestimmten Zeitpunkten wurden venöse Blutentnahmen durchgeführt, des Weiteren wurden zu bestimmten Zeitpunkten Urin - Proben entnommen. Die Blutentnahmezeitpunkte waren „Präschock“, also direkt vor Beginn des Schocks, nach Anlage aller Katheter. Danach wurde der Zeitpunkt „Ende Blutung“ abgenommen, dieser war 15 Minuten nach Beginn des Schocks. Als nächstes wurde eine Blutentnahme am Zeitpunkt „Ende Schock“ durchgeführt. Direkt nach diesem Zeitpunkt wurde die Reperfusion mit Ringer - Lösung begonnen und 15 Minuten später das LIM - System bei der LIM - Gruppe angeschlossen. Der nächste Blutentnahmezeitpunkt war 15 Minuten nach Ende des Schocks also kurz vor Anschluß des LIM-Systems, dann 25 Minuten nach Ende des Schocks, danach wurde bei 45 Minuten nach Ende des Schocks Blut abgenommen, dann bei 75 Minuten nach Ende des Schocks, dann bei 135 Minuten nach Ende des Schocks und zuletzt kurz vor Ende der OP bei 195 Minuten nach Ende des Schocks. Zu jedem Zeitpunkt wurde direkt vor Ort ein Differentialblutbild angefertigt.

4.9. Nachbeobachtung

Nach Beendigung der Narkose wurde das Versuchstier in den Stall zurückgebracht. Es wurde so lange beobachtet, bis es ausreichend wach war, um sich selbst überlassen zu werden. Am nächsten Morgen, jeweils um 8 Uhr, wurde eine Blutentnahme durchgeführt. Hierzu wurde der Shaldon - Katheter benutzt, wovon ein Schenkel nach außen ausgeleitet und mittels Naht an der Haut fixiert wurde. Das Versuchstier wurde zur Blutentnahme manuell fixiert, sofern diese nicht ohne Fixierung toleriert wurde. Die 2. Blutentnahme wurde um 20 Uhr durchgeführt. Am

Material und Methoden

darauf folgenden Morgen wurde bei der Versuchsgruppe mit 48 h Nachbeobachtungszeit erneut eine Narkose durchgeführt (wie unter 4.2 und 4.3 beschrieben). Es wurden alle oben genannten Katheter zur Messung der Vitalparameter erneut angeschlossen. Nach dieser Messung wurde das Versuchstier euthanasiert. Bei der anderen Versuchsgruppe mit 72 h Nachbeobachtungszeit wurden 2 weitere Blutentnahmen analog zu den vorher beschriebenen durchgeführt und die Versuchstiere einen Tag später erneut narkotisiert, um alle Vitalparameter zu messen. Auch die Tiere dieser Versuchsgruppe wurden nun euthanasiert. Nach der Euthanasie wurden alle Tiere einer Sektion zugeführt. Dies fand im Sektionsraum der Tierversuchsanlage Düsseldorf statt.

4.10. Sektion

Zur Sektion wurde das Tier an allen 4 Extremitäten am Sektionstisch fixiert. Es wurde eine mediane Laparotomie durchgeführt und von einer queren Oberbauchlaparotomie ergänzt. Nun wurde der Thorax eröffnet und beidseits die Rippen in der Medioklavikularlinie durchtrennt. Jetzt konnte auch der knöcherne Thorax eröffnet werden.



Abb 4: Organentnahme

Nun wurden zunächst alle inneren Organe makroskopisch untersucht und Auffälligkeiten im Sektionsprotokoll festgehalten. Jetzt wurden aus den dazu

vorgesehenen Organen entsprechend große Proben entnommen, um sie histologisch, elektronenmikroskopisch, im Gefrierpräparat und in Glutaraldehyd eingebettet zu untersuchen. Die Proben wurden unmittelbar nach der Sektion zur Weiterverarbeitung in das unfallchirurgische Forschungslabor gebracht.

4.11. Messungen

Zur Anfertigung der Blutgasanalysen (BGA) wurde ein Radiometer Abl 800 Flex verwendet, das einer regelmäßigen Wartung durch den technischen Dienst der Universitätsklinik unterlag. Die Blutgasanalysen wurden direkt vor Ort im Operationsbereich der Tierversuchsanlage vorgenommen.

Die Bestimmung der Differentialblutbilder wurde mit einem speziellen Gerät für Tiere vorgenommen (Vet Scil) das ebenfalls vor Ort in der Tierversuchsanlage verfügbar war, sodass die Zeit zwischen Blutentnahme und Messung nur wenige Minuten betrug.

Die restlichen Blutproben wurden zeitnah in das unfallchirurgische Forschungslabor gebracht, dort zentrifugiert und das Serum zur weiteren Untersuchung eingefroren. Die weiteren Untersuchungen erfolgten dann im Zentrallabor der Universitätsklinik.

Die Proben zur Untersuchung der Blutgerinnung wurden zeitnah direkt in das Zentrallabor der Universitätsklinik gebracht.

Das Monitoring während des Versuches wurde mit einem Siemens SC 9000 Intensivmonitor durchgeführt. Hiermit konnte der mittlere arterielle Druck, der systolische und diastolische Blutdruck, der zentralvenöse Druck, der pulmonalarterielle Druck sowie der pulmonalarterielle Verschlussdruck gemessen werden.

Material und Methoden

Des Weiteren kam der Vigilance Monitor der Firma Edwards zum Einsatz, womit die gemischtvenöse Sauerstoffsättigung des Blutes und das Herzzeitvolumen sowie die Temperatur gemessen werden konnte.

4.12. Materialliste

5 Fr arterieller Katheter	fa. Braun, Melsungen, Deutschland
8 Fr Einführungsschleuse	fa. Edwards Lifesciences, Irvine, California
Atropinsulfat 0,5 mg / ml	fa. Braun, Melsungen, Deutschland
Azaperon (Stresnil)	fa. Janssen Pharmaceutica Beerse, Belgien
Beißschutz aus Holz	
BGA Gerät ABL 800 Flex	fa. Radiometer GmbH, Willich, Deutschland
Blasenkatheter Cystofix	fa. Braun, Melsungen, Deutschland
Dreilumiger 8 Fr Sheldon-Katheter	Arrow / Teleflex Medical, Westmeath, Ireland
Fentanyl 50 µg / ml	fa. Rationpharm, Ulm, Deutschland
Isofluran (1%)	fa. Baxter, Unterschleißheim, Deutschland
Kautschuktubus 6-7 mm	
Ketamin	fa. Veterinaria AG, Zürich, Schweiz
Lachgas-Sauerstoff-Mischung	
periphervenöser Zugang 1,1 mm	fa. Braun, Melsungen, Deutschland
Phenobarbital (Eutha [®] 77)	fa. Veterinaria AG, Zürich, Schweiz
Piritramid	
Ringer-Lösung	fa. Deltaselect, Köln, Deutschland
SAS/Stat ver. 8	fa. SAS Institute, Inc, Cary, USA
SC 9000 Monitor	fa. Siemens, Erlangen, Deutschland
SPSS ver. 15	fa. SPSS, Inc, Chicago, USA

Material und Methoden

Swan & Ganz - Katheter

fa. Edwards Lifesciences, Irvine, California

Thiopental

VET-abc

fa. scil animal care Company, Viernheim

Vigilance Monitor

fa. Edwards Lifesciences, Irvine, California

5. Ergebnisse

5.1. MAP und Herzfrequenz im Überblick

Im Versuch wurde der MAP nach 15 - minütiger Ruhephase, nach Katheteranlage und 10 - minütiger Erfassung der Ausgangswerte, innerhalb von höchstens 15 Minuten auf den Zielwert ($35 \text{ mmHg} \pm 5$) gesenkt und für 45 Minuten durch weitere Blutentnahmen weitgehend konstant gehalten. Die Messwerte wurden alle 5 Minuten ermittelt.



Abb. 1 zeigt die Mittelwerte des arteriellen Mitteldrucks (MAP) und der Herzfrequenz (HF) der LIM - Gruppe und der SMC - Gruppe während des ersten Versuchstages im Vergleich. Es werden die Herzfrequenz in Schlägen pro Minute [S/min] und der mittlere arterielle Druck [mmHg] gezeigt.

In der Ruhephase nach Anlage aller Katheter blieb der arterielle Mitteldruck konstant (LIM - Gruppe Prä Schock: 75 mmHg; SMC - Gruppe Prä Schock: 76 mmHg). Mit der zehnten Minute wurde die Entblutungsphase durch Blutentnahmen eingeleitet und

Ergebnisse

der arterielle Mitteldruck fiel innerhalb der nächsten 15 Minuten auf den Zielwert 35 ± 5 mmHg (SMC - Gruppe: Beginn Schock 34 mmHg; LIM - Gruppe: Beginn Schock 33 mmHg). In der anschließenden 45 - minütigen Schockphase stieg der MAP in beiden Gruppen wieder leicht an (SMC - Gruppe: von 34 mmHg kontinuierlich auf 42 mmHg; LIM - Gruppe: von 33 mmHg kontinuierlich auf 41 mmHg). Nun erfolgte die Infusion der Reperfusionslösung und 15 Minuten später der Anschluss des LIM - Systems. Der MAP stieg in der LIM - Gruppe etwas weniger steil an (65 mmHg zum Zeitpunkt 85 min) als in der SMC - Gruppe (73 mmHg zum Zeitpunkt 85 min). Daraufhin fiel der MAP in beiden Gruppen wieder etwas ab, wobei der MAP in der SMC - Gruppe etwas langsamer fiel als in der LIM - Gruppe (LIM - Gruppe zum Zeitpunkt 115 min: 53 mmHg; SMC - Gruppe zum Zeitpunkt 115 min: 58 mmHg). Kurz vor Ende der LIM - Therapie wurden annähernd gleiche MAP Mittelwerte gemessen in beiden Gruppen gemessen (LIM - Gruppe bei 250 Minuten: 54 mmHg; SMC - Gruppe bei 250 Minuten: 54 mmHg)

Der Verlauf der Herzfrequenz während des Versuches war zwischen den beiden Gruppen nicht so ähnlich wie es bei dem arteriellen Mitteldruck zu beobachten war. Die LIM - Gruppe startete mit einer höheren Herzfrequenz als die SMC - Gruppe (SMC - Gruppe präshock: 87 S/min; LIM - Gruppe präshock: 96 S/min). Während der Schockphase stieg die Herzfrequenz kontinuierlich an, besonders steil in den ersten 15 Minuten (LIM - Gruppe am Ende der Entblutungsphase 127 S/min; SMC - Gruppe am Ende der Entblutungsphase 114 S/min). Im Verlauf der Schockphase stieg die Herzfrequenz nahezu kontinuierlich weiter an, bei der LIM - Gruppe steiler als bei der SMC - Gruppe (LIM - Gruppe zum Zeitpunkt 70 min: 165 S/min; SMC - Gruppe zum Zeitpunkt 70 min: 129 S/min). Während der Reperfusion fiel die Herzfrequenz auf etwa den Wert, der nach der Entblutung erreicht wurde (LIM - Gruppe bei 80 min: 130 S/min, SMC - Gruppe bei 80 min:

Ergebnisse

113 S/min). Nun stieg die Herzfrequenz in der LIM - Gruppe auf 150 S/min und in der SMC - Gruppe auf 130 S/min an, wobei die Verläufe bei LIM - und SMC - Gruppe nahezu parallel waren. Die Herzfrequenz der LIM - Gruppe erreichte nach 150 Minuten etwa die gleiche Herzfrequenz wie zum Ende der Schockphase (LIM - Gruppe bei 150 min: 164 S/min)

Die SMC - Gruppe erreichte nach 150 Minuten die im Verlauf bisher höchste Herzfrequenz (SMC - Gruppe bei 150 min: 136 S/min). Die Herzfrequenz der LIM - Gruppe fiel bis zum Ende des ersten Versuchstages langsam kontinuierlich ab (LIM - Gruppe zum Zeitpunkt 250 min: 150 S/min). Die SMC - Gruppe zeigte eine konstante Herzfrequenz bis zum Ende des ersten Versuchstages (SMC - Gruppe zum Zeitpunkt 250 min: 128 S/min).

5.2. Herzfrequenz

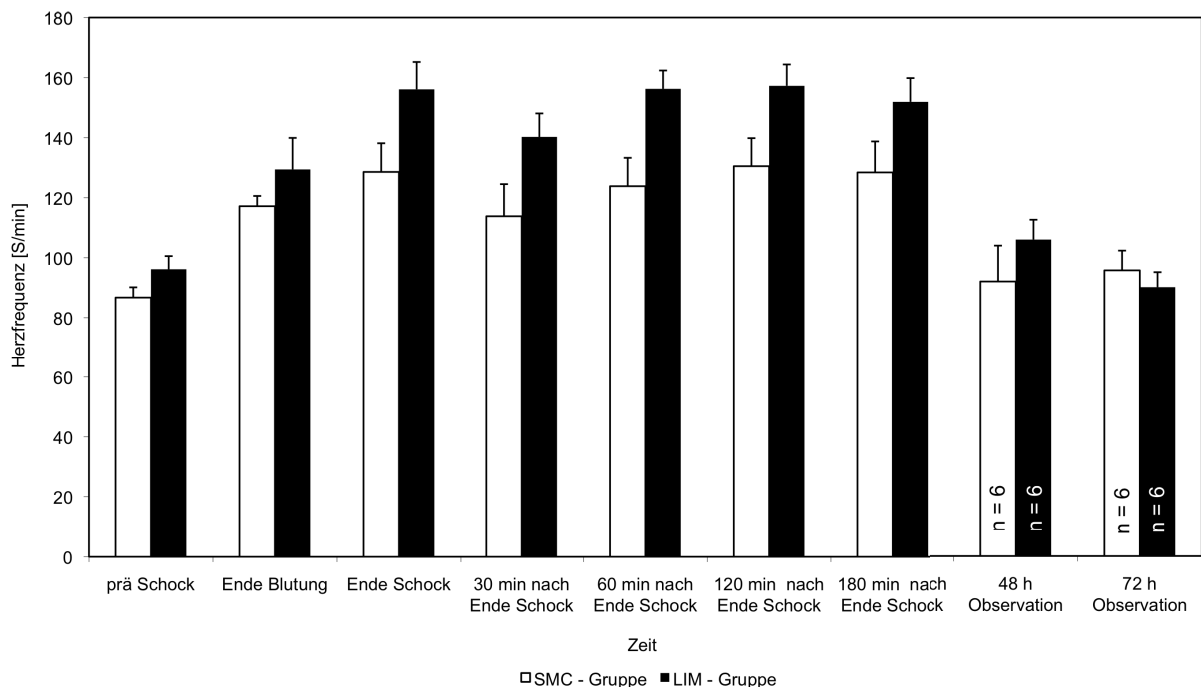


Abb.2 zeigt die Herzfrequenz von SMC - und LIM - Gruppe im Vergleich. Die Messwerte sind auf die entscheidenden Zeitpunkte beschränkt. Beide Gruppen hatten eine Größe von 12 Tieren, wobei die Gruppengröße zu den Nachbeobachtungszeitpunkten 48 h und 72 h, wie im Diagramm aufgeschlüsselt, unterschiedlich waren. Als Fehlerindikator ist der Standardfehler des Arithmetischen Mittelwertes (SEM) dargestellt.

Ergebnisse

Zunächst zeigte sich vor der Entblutung (Präshock) ein Unterschied zwischen beiden Gruppen von 9,44 S/min ($86,73 \text{ S/min} \pm 3,41$ bei der SMC - und $96,17 \text{ S/min} \pm 4,37$ bei der LIM - Gruppe). Nach der Entblutung (Ende Blutung) vergrößerte sich dieser Unterschied weiter ($117,16 \text{ S/min} \pm 9,55$ bei der SMC - Gruppe und $129,42 \text{ S/min} \pm 10,50$ bei der LIM - Gruppe). Am Ende der Schock - Phase (Ende Schock) war der Unterschied zwischen der mittleren Herzfrequenz der SMC - Gruppe und der LIM - Gruppe noch weiter angewachsen ($128,58 \text{ S/min} \pm 10,70$ bei der SMC - Gruppe und $156,08 \text{ S/min} \pm 9,11$ bei der LIM - Gruppe). Nach Beendigung des Schocks wurde mit Ringerlösung reperfundiert und 15 Minuten später nur bei der LIM - Gruppe der extrakorporale Kreislauf mit dem LIM angeschlossen. Die Herzfrequenz und der Unterschied zwischen beiden Gruppen sank 30 Minuten nach Ende des Schocks ($113,82 \text{ S/min} \pm 9,45$ bei der SMC - Gruppe und $140,25 \text{ S/min} \pm 7,82$ bei der LIM - Gruppe). Die Herzfrequenz stieg in beiden Gruppen 60 Minuten nach dem Ende des Schocks bzw. dem Anschluss des LIM wieder an, wobei sie in der LIM - Gruppe etwas stärker anstieg als in der SMC - Gruppe ($123,83 \text{ S/min} \pm 9,33$ bei der SMC - Gruppe und $156,25 \text{ S/min} \pm 6,11$ bei der LIM - Gruppe). Die Herzfrequenz erreichte bei 120 Minuten nach Ende des Schocks in beiden Gruppen jeweils ihr Maximum, wobei sie etwa auf dem Niveau wie zu dem Zeitpunkt „Ende Schock“ war ($130,50 \text{ S/min} \pm 10,32 \text{ S/min}$ bei der SMC - Gruppe und $157,25 \text{ S/min} \pm 7,12$ bei der LIM - Gruppe). Die Herzfrequenz sank 180 Minuten nach Ende des Schocks in beiden Gruppen leicht, wobei sie in der LIM - Gruppe etwas stärker sank ($128,42 \text{ S/min}$ bei der SMC - Gruppe $\pm 11,99$ und $151,92 \text{ S/min} \pm 7,92$ bei der LIM - Gruppe). Der mittlere Unterschied beider Gruppen betrug am Ende des Versuches bei 180 min nach Ende mehr als vor Beginn des Schocks ($23,50 \text{ S/min}$ 180 min nach Ende des Schocks und $9,44 \text{ S/min}$ vor Beginn des

Ergebnisse

Schocks). Der Standardfehler des Arithmetischen Mittelwertes stieg im Verlauf in beiden Gruppen an und sank gegen Ende der „LIM - Phase“ wieder leicht ($\pm 4,37$ S/min vor Beginn des Schocks $\pm 3,41$ in der SMC - Gruppe und in der LIM - Gruppe; $\pm 11,99$ S/min 180 Minuten nach Ende des Schocks in der SMC - Gruppe und $\pm 7,92$ S/min in der LIM - Gruppe).

Nach 48 h bzw. nach 72 h wurden die Tiere erneut in Narkose versetzt, um alle bisher erhobenen hämodynamischen Parameter wiederholt zu bestimmen. Die Gruppengröße verringerte sich auf $n = 6$ SMC - Tiere und $n = 6$ LIM - Tiere für die 48 h nachbeobachtete Gruppe, wobei sich die Gruppengröße für die 72 h nachbeobachteten Tiere ebenfalls auf $n = 6$ SMC - Tiere und $n = 6$ LIM - Tiere belief. Im Bezug auf die Herzfrequenz zeigte sich, dass diese in beiden Gruppen der 48 h Tiere wieder gesunken war. ($91,89$ S/min $\pm 6,59$ bei der SMC - Gruppe und $105,89$ S/min $\pm 6,63$ bei der LIM - Gruppe). Somit war die Herzfrequenz, die vor Beginn des Schocks gemessen wurde, nahezu wieder erreicht. Der Unterschied der Herzfrequenz zwischen SMC - und LIM - Gruppe war etwas größer als vor Beginn des Schocks ($9,44$ S/min vor Beginn des Schocks und $14,00$ S/min 48 h nach Beginn des Schocks). Bei den Tieren mit 72 h Nachbeobachtungszeit sank die Herzfrequenz ebenfalls in den Bereich der Werte vor Beginn des Schocks. Der Mittelwert der SMC - Gruppe war höher als vor Beginn des Schocks und der Mittelwert der LIM - Gruppe niedriger als vor Beginn des Schocks ($95,61$ S/min $\pm 9,77$ bei der SMC - Gruppe und $90,00$ S/min $\pm 5,00$ bei der LIM - Gruppe).

Ergebnisse

5.3. mittlerer arterieller Druck

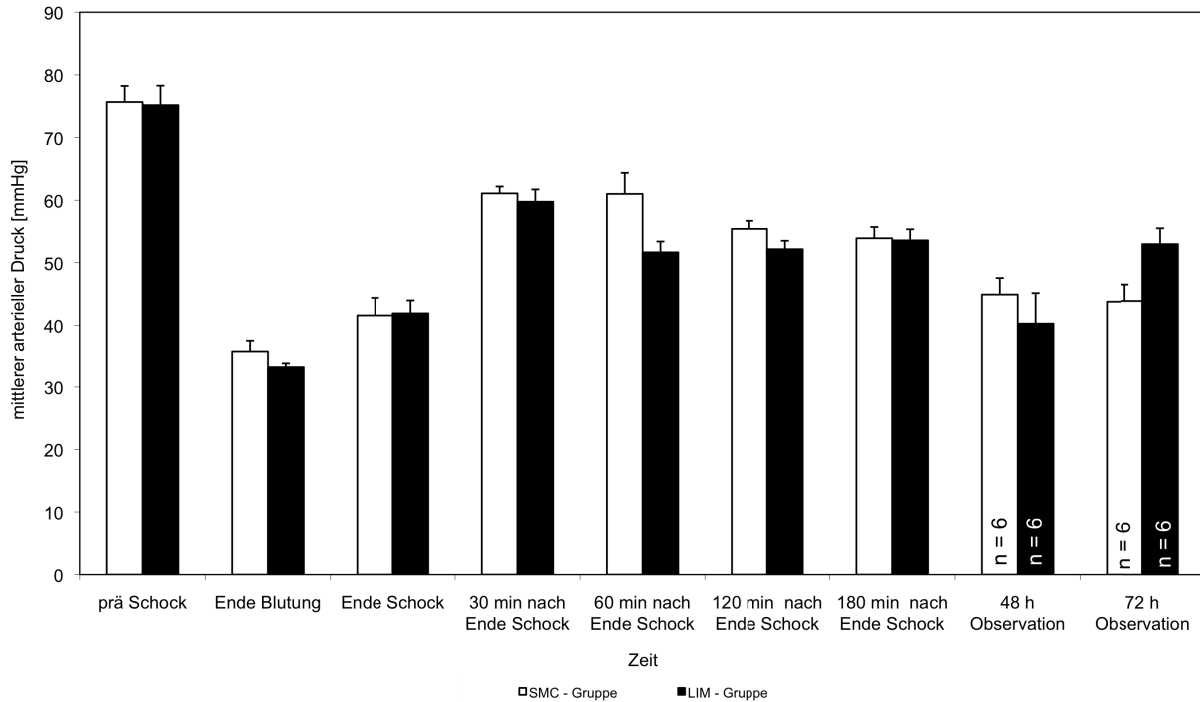


Abb.3 zeigt den mittleren arteriellen Druck (MAP) der SMC - und LIM - Gruppe zu den ausgewählten Zeitpunkten im Vergleich. Beide Gruppen hatten eine Größe von 12 Tieren, wobei die Gruppengröße zu den Nachbeobachtungszeitpunkten 48 h und 72 h, wie im Diagramm aufgeschlüsselt, unterschiedlich waren. Als Fehlerindikator ist der Standardfehler des Arithmetischen Mittelwertes (SEM) dargestellt.

Vor Einleitung des Schocks war der MAP in beiden Gruppen sehr ähnlich (75,67 mmHg \pm 2,57 bei der SMC - Gruppe und 75,17 mmHg \pm 3,11 bei der LIM - Gruppe). Nach Ende der 15 - minütigen Entblutungsphase (Ende Blutung) war der MAP auf den Zielbereich um 35 mmHg \pm 5 in beiden Gruppen gesunken (35,83 mmHg \pm 1,71 bei der SMC - Gruppe und 33,17 mmHg \pm 0,60 bei der LIM - Gruppe). Am Ende des Schocks (Ende Schock) war der MAP bei beiden Gruppen wieder leicht angestiegen (41,58 mmHg \pm 2,81 bei der SMC - Gruppe und 41,92 mmHg \pm 2,07 bei der LIM - Gruppe). Nach Ende des Schocks wurde die Reperfusion mit Ringerlösung begonnen und 15 Minuten danach bei der LIM - Gruppe der extrakorporale Kreislauf mit dem LIM angeschlossen. Der MAP stieg 30 Minuten nach Ende des Schocks in beiden Gruppen auf ähnliche Werte an

Ergebnisse

(60,08 mmHg \pm 1,10 bei der SMC - Gruppe und 59,75 mmHg \pm 1,97 bei der LIM - Gruppe). In der SMC - Gruppe war der MAP 60 Minuten nach Ende des Schocks höher als in der LIM - Gruppe (61,00 mmHg \pm 3,37 bei der SMC - Gruppe und 51,67 mmHg \pm 1,73 bei der LIM - Gruppe). Der MAP der SMC - Gruppe und der LIM - Gruppe näherte sich 120 Minuten nach Ende des Schocks wieder an, wobei die SMC - Gruppe weiterhin den höheren MAP aufwies (55,42 mmHg \pm 1,29 bei der SMC - Gruppe und 52,17 mmHg \pm 1,35 bei der LIM - Gruppe). Der MAP der SMC - und LIM - Gruppe hatte sich 180 Minuten nach Ende des Schocks noch weiter angenähert (53,92 mmHg \pm 1,80 bei der SMC - Gruppe und 53,58 mmHg \pm 1,77 bei der LIM - Gruppe). Hiernach erfolgte die Nachbeobachtungsphase der Tiere, die entweder 48 h oder 72 h betrug. Die SMC - Gruppe und die LIM - Gruppe wurden aufgeteilt, so dass 6 SMC - Tiere und 6 LIM - Tiere mit einer Nachbeobachtungszeit von 48 h und 6 SMC - Tiere und 6 LIM - Tiere mit einer Nachbeobachtungszeit von 72 h zur Auswertung kamen. Hierzu wurden die Tiere erneut in Narkose versetzt und die entsprechenden Parameter erneut bestimmt. Es zeigte sich, dass der MAP der Tiere mit 48 h Nachbeobachtungszeit in der LIM - Gruppe dem der SMC - Gruppe ähnlich war (44,92 mmHg \pm 2,64 bei der SMC - Gruppe und 40,28 mmHg \pm 4,86 bei der LIM - Gruppe). Bei den Tieren mit 72 h Nachbeobachtungszeit zeigte sich, dass die Tiere der LIM - Gruppe einen höheren MAP als die Tiere der SMC - Gruppe aufwiesen (43,78 mmHg \pm 2,63 bei der SMC - Gruppe und 52,89 mmHg \pm 2,54 bei der LIM - Gruppe). Der Unterschied zwischen beiden Gruppen war zum Nachbeobachtungszeitpunkt 72 h mit $p < 0,05$ signifikant. Insgesamt zeigte sich, dass der Blutdruck aller Gruppen zu beiden Nachbeobachtungszeitpunkten deutlich niedriger war als vor Beginn des Versuches.

Ergebnisse

5.4. gemischtvenöse Sauerstoffsättigung

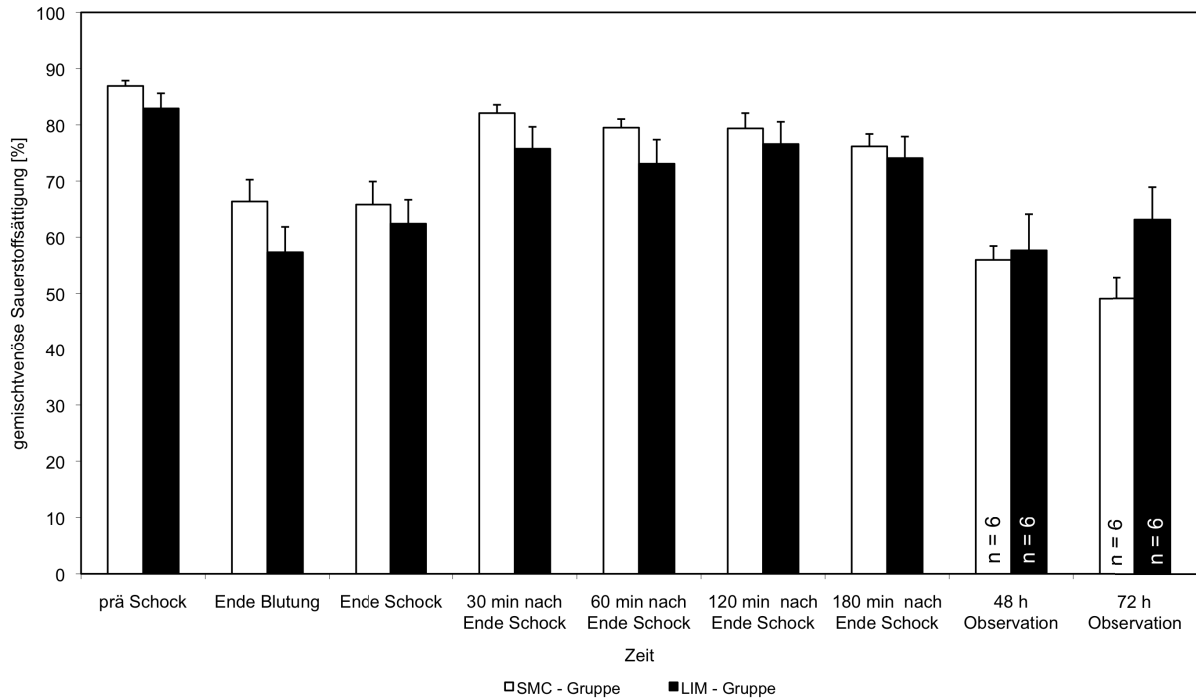


Abb. 4 zeigt die gemischtvenöse Sauerstoffsättigung, die in der Pulmonalarterie mittels eines Swan & Ganz - Katheters gemessen wurde. Es sind die Werte der SMC - Gruppe und der LIM - Gruppe zu den ausgewählten Zeitpunkten im Vergleich dargestellt. Beide Gruppen hatten eine Größe von 12 Tieren, wobei die Gruppengröße zu den Nachbeobachtungszeitpunkten 48 h und 72 h, wie im Diagramm aufgeschlüsselt, unterschiedlich waren. Als Fehlerindikator ist der Standardfehler des Arithmetischen Mittelwertes (SEM) dargestellt.

Es konnten vor Beginn des Schocks nur geringe Unterschiede zwischen SMC - Gruppe und LIM - Gruppe festgestellt werden. Die gemischtvenöse Sauerstoffsättigung lag bei der SMC - Gruppe etwas höher als bei der LIM - Gruppe (86,92 % ± 0,95 bei der SMC - Gruppe und 82,92 % ± 2,69 bei der LIM - Gruppe). Am Ende der Entblutungsphase war die gemischtvenöse Sauerstoffsättigung in beiden Gruppen gesunken, wobei sie in der LIM - Gruppe niedriger als in der SMC -Gruppe war (66,36 % ± 3,89 bei der SMC - Gruppe und 57,33 % ± 4,51 bei der LIM - Gruppe). Somit ist der Unterschied zwischen LIM - und SMC - Gruppe leicht angestiegen. Am Ende des Schocks war die gemischtvenöse Sauerstoffsättigung in beiden Gruppen wieder ähnlicher (65,82 % ± 4,10 bei der

Ergebnisse

SMC - Gruppe und $62,42 \% \pm 4,25$ bei der LIM - Gruppe). Die SVO_2 stieg 30 Minuten nach Beginn der Reperfusion und Ende des Schocks in beiden Gruppen wieder an, blieb jedoch unterhalb der Werte, die vor Beginn des Schocks gemessen wurden ($82,08 \% \pm 1,48$ bei der SMC - Gruppe und $75,75 \% \pm 3,9$ bei der LIM - Gruppe). Der Unterschied zwischen beiden Gruppen wurde wieder etwas größer. Die SVO_2 war in beiden Gruppen 60 Minuten nach Ende des Schocks wieder leicht abgefallen ($79,50 \% \pm 1,53$ bei der SMC - Gruppe und $73,08 \% \pm 4,28$ bei der LIM - Gruppe). Der Unterschied zwischen SMC - und LIM - Gruppe 120 Minuten nach Ende des Schocks wurde wieder deutlich kleiner ($79,36 \% \pm 2,72$ bei der SMC - Gruppe und $76,58 \% \pm 3,96$ bei der LIM - Gruppe). Bei leicht sinkender gemischtvenöser Sauerstoffsättigung 180 Minuten nach Ende des Schocks verringerte sich der Unterschied zwischen SMC - und LIM - Gruppe etwas ($76,17 \% \pm 2,21$ bei der SMC - Gruppe und $74,08 \% \pm 3,83$ bei der LIM - Gruppe). Bei der erneuten Messung der gemischtvenösen Sauerstoffsättigung nach 48 h zeigte sich ein wesentlich niedrigeres Niveau als am Ende des ersten OP - Tages. Die LIM - Gruppe hatte aber einen marginal höheren SVO_2 - Wert als die SMC - Gruppe ($55,97 \% \pm 2,47$ bei der SMC - Gruppe und $57,67 \% \pm 6,44$ bei der LIM - Gruppe). Hierzu ist hinzuzufügen, dass für diese Messung 6 SMC - Tiere und 6 LIM - Tiere zur Verfügung standen. Nach 72 h war der Unterschied zwischen SMC - und LIM - Gruppe noch etwas größer, wobei die LIM - Gruppe die höhere SVO_2 aufwies ($49,08 \% \pm 3,70$ bei der SMC - Gruppe und $63,11 \% \pm 5,77$ bei der LIM - Gruppe). Es sind bei dem 72 h - Wert 6 SMC - Tiere und 6 LIM - Tiere zur Auswertung gekommen. Nach der statistischen Auswertung zeigte sich, dass die Unterschiede nach 72 h zwischen SMC - und LIM - Gruppe mit $p=0,0625$ statistisch nicht signifikant waren.

5.5. Herzminutenvolumen

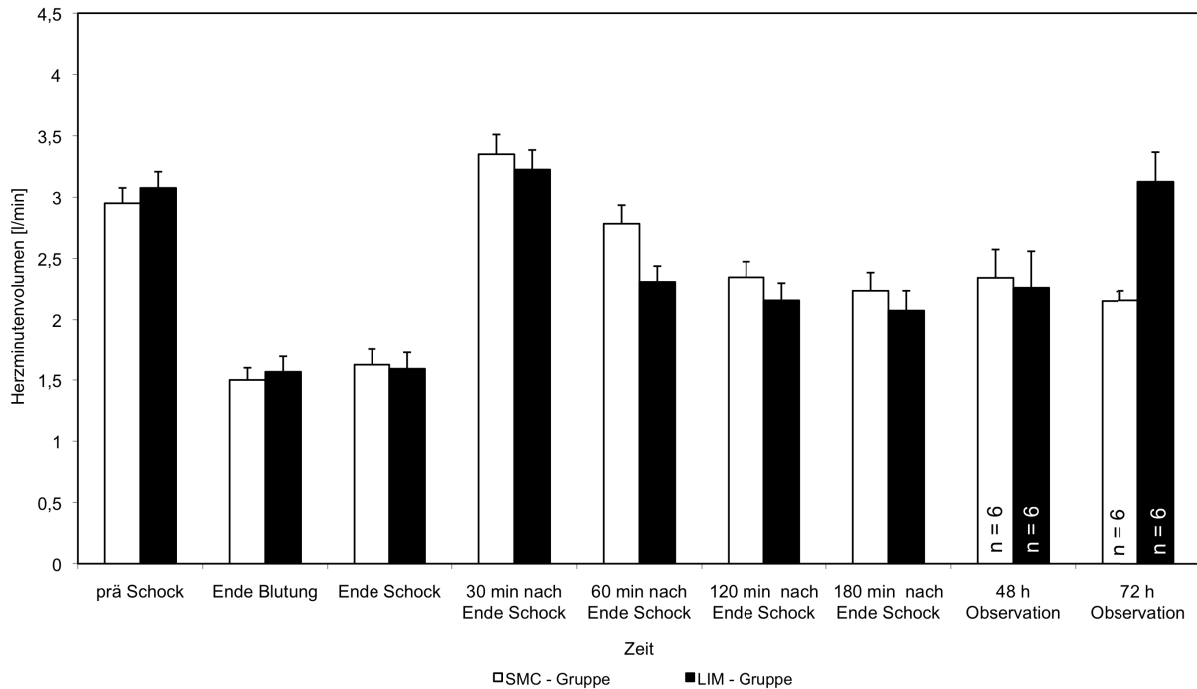


Abb. 5 zeigt das Herzzeitvolumen das mithilfe eines Swan & Ganz - Katheters gemessen wurde. Es sind die Werte der SMC - und der LIM - Gruppe zu den ausgewählten Zeitpunkten im Vergleich dargestellt. Beide Gruppen hatten eine Größe von 12 Tieren, wobei die Gruppengröße zu den Nachbeobachtungszeitpunkten 48 h und 72 h, wie im Diagramm aufgeschlüsselt, unterschiedlich waren. Als Fehlerindikator ist der Standardfehler des Arithmetischen Mittelwertes (SEM) dargestellt.

Zu Beginn des Versuches wurde in beiden Gruppen ein leicht unterschiedliches Herzzeitvolumen gemessen (2,95 l/min \pm 0,13 bei der SMC - Gruppe und 3,08 l/min \pm 0,13 bei der LIM - Gruppe). Nach Ende der Entblutungsphase war das Herzzeitvolumen in beiden Gruppen gesunken, wobei es keinen wesentlichen Unterschied des HZV der beiden Gruppen gab (1,50 l/min \pm 0,10 bei der SMC - Gruppe und 1,57 l/min \pm 0,13 bei der LIM - Gruppe). Am Ende der Schockphase hatten sich die Herzzeitvolumina der beiden Gruppen weiter angenähert. Das HZV der SMC - Gruppe war etwas stärker gestiegen als bei der LIM - Gruppe und wies nun einen geringfügig höheren Wert auf (1,63 l/min \pm 0,13 bei der SMC - Gruppe und 1,59 l/min \pm 0,13 bei der LIM - Gruppe). Hiernach erfolgte die Reperfusion und dann der Anschluß des LIM - Systems. Das Herzzeitvolumen

Ergebnisse

30 Minuten nach Ende des Schocks stieg in beiden Gruppen auf leicht höhere Werte als vor der Entblutung (3,35 l/min \pm 0,16 bei der SMC - Gruppe und 3,23 l/min \pm 0,16 bei der LIM - Gruppe). Das Herzzeitvolumen war 60 Minuten nach Ende des Schocks in beiden Gruppen wieder abgefallen, wobei es in der LIM - Gruppe stärker abgefallen war (2,78 l/min \pm 0,15 bei der SMC - Gruppe und 2,31 l/min \pm 0,13 bei der LIM - Gruppe). Die Herzzeitvolumina der SMC - und der LIM - Gruppe hatten sich 120 Minuten nach Ende des Schocks wieder etwas mehr angenähert (2,35 l/min \pm 0,13 bei der SMC - Gruppe und 2,16 l/min \pm 0,14 bei der LIM - Gruppe). Das Herzzeitvolumen war 180 Minuten nach Ende des Schocks, also kurz vor Ende der LIM - Phase, weiter abgefallen. Es war in der SMC - Gruppe etwas stärker abgefallen als in der LIM - Gruppe, wobei in der LIM - Gruppe ein leicht geringeres HZV vorlag (2,24 l/min \pm 0,15 bei der SMC - Gruppe und 2,08 l/min \pm 0,16 bei der LIM - Gruppe). Zum Nachbeobachtungszeitpunkt 48 h war das Herzzeitvolumen in der SMC - Gruppe leicht abgefallen und in der LIM - Gruppe leicht angestiegen. Beide Gruppen wiesen jedoch sehr ähnliche Werte auf (2,34 l/min \pm 0,23 bei der SMC - Gruppe und 2,26 l/min \pm 0,30 bei der LIM - Gruppe). Zu diesem Zeitpunkt wurde das Herzzeitvolumen bei 6 SMC - Tieren und bei 6 LIM - Tieren gemessen. Zum Nachbeobachtungszeitpunkt 72 h war das Herzzeitvolumen in der SMC - Gruppe leicht geringer als zum Nachbeobachtungszeitpunkt 48 h. Das HZV der LIM - Gruppe war deutlich größer als das der SMC - Gruppe und als das der LIM - Gruppe zum Nachbeobachtungszeitpunkt 48 h (2,15 l/min \pm 0,08 bei der SMC - Gruppe und 3,12 l/min \pm 0,24 bei der LIM - Gruppe). Es wurde zum 72 h Nachbeobachtungszeitpunkt das Herzzeitvolumen bei 6 SMC - Tieren und bei 6 LIM - Tieren erfasst. Die statistische Auswertung zeigte, dass die Differenz zum Nachbeobachtungszeitpunkt 72 h mit $p < 0,05$ statistisch signifikant war.

Ergebnisse

5.6. pH - Wert

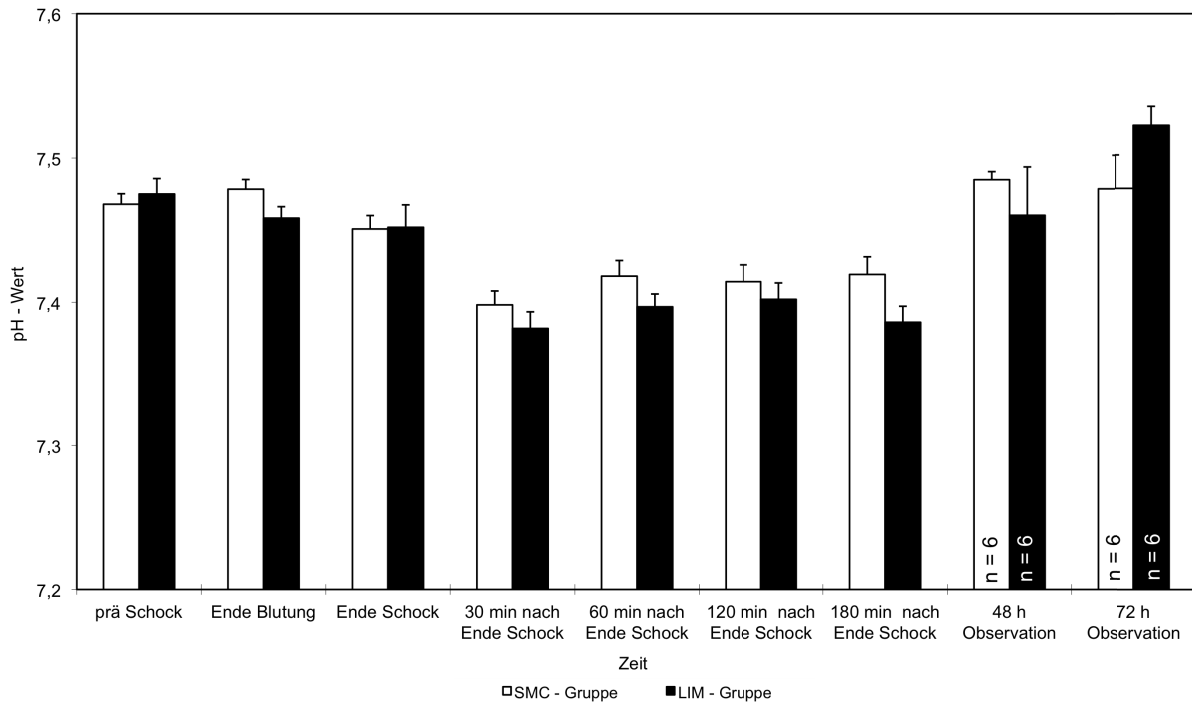


Abb. 6 zeigt die pH - Werte die mittels eines Blutgasanalysegerätes aus arteriellem Blut festgestellt wurden. Es sind die Werte der SMC - und der LIM - Gruppe zu den ausgewählten Zeitpunkten im Vergleich dargestellt. Beide Gruppen hatten eine Größe von 12 Tieren, wobei die Gruppengröße zu den Nachbeobachtungszeitpunkten 48 h und 72 h, wie im Diagramm aufgeschlüsselt, unterschiedlich waren. Als Fehlerindikator ist der Standardfehler des Arithmetischen Mittelwertes (SEM) dargestellt.

Zu Beginn des Versuches zeigte sich eine sehr ähnliche Ausgangssituation beider Gruppen bezüglich des pH - Wertes. Die Tiere der SMC - Gruppe hatten einen leicht niedrigeren pH - Wert im arteriellen Blut als die Tiere der LIM - Gruppe ($7,47 \pm 0,01$ bei der SMC - Gruppe und $7,48 \pm 0,01$ bei der LIM - Gruppe). Am Ende der Blutungsphase war der pH - Wert in der LIM - Gruppe etwas stärker gesunken als in der SMC - Gruppe ($7,48 \pm 0,01$ bei der SMC - Gruppe und $7,46 \pm 0,01$ bei der LIM - Gruppe). Am Ende der Schockphase war der pH - Wert in beiden Gruppen weiter gesunken ($7,45 \pm 0,01$ bei der SMC - Gruppe und $7,45 \pm 0,02$ bei der LIM - Gruppe). Der pH - Wert war in beiden Gruppen 30 Minuten nach Ende des Schocks weiter gesunken ($7,40 \pm 0,01$ bei der SMC - Gruppe und $7,38 \pm 0,01$ bei der LIM - Gruppe). In beiden Gruppen war der pH - Wert 60 Minuten nach Ende des

Ergebnisse

Schocks im Vergleich zum vorherigen Messzeitpunkt wieder leicht gestiegen ($7,42 \pm 0,01$ bei der SMC - Gruppe und $7,40 \pm 0,01$ bei der LIM - Gruppe). Der pH - Wert war 120 Minuten nach Ende des Schocks in der SMC - Gruppe weiter leicht gestiegen und in der LIM - Gruppe gleich geblieben ($7,41 \pm 0,01$ bei der SMC - Gruppe und $7,40 \pm 0,01$ bei der LIM - Gruppe). Der pH - Wert war 180 Minuten nach Ende des Schocks und kurz vor Ende der Narkosezeit in der SMC - Gruppe weiter leicht gestiegen und in der LIM - Gruppe leicht gefallen ($7,42 \pm 0,01$ bei der SMC - Gruppe und $7,39 \pm 0,01$ bei der LIM - Gruppe). Bei den Tieren, die 48 h nachbeobachtet wurden, lag der pH - Wert in der SMC - Gruppe unter dem der Tiere in der LIM - Gruppe ($7,49 \pm 0,01$ bei der SMC - Gruppe und $7,46 \pm 0,03$ bei der LIM - Gruppe). Bei den Tieren, die 72 h nachbeobachtet wurden, war der pH - Wert in der SMC - Gruppe niedriger als in der LIM - Gruppe ($7,48 \pm 0,02$ bei der SMC - Gruppe und $7,52 \pm 0,01$ bei der LIM - Gruppe). Statistisch signifikante Unterschiede der Gruppen zueinander konnten nicht nachgewiesen werden, jedoch ist bemerkenswert, dass der pH - Wert fast während des gesamten Versuchsverlaufes eher im alkalischen Bereich lag.

5.7. Base Excess

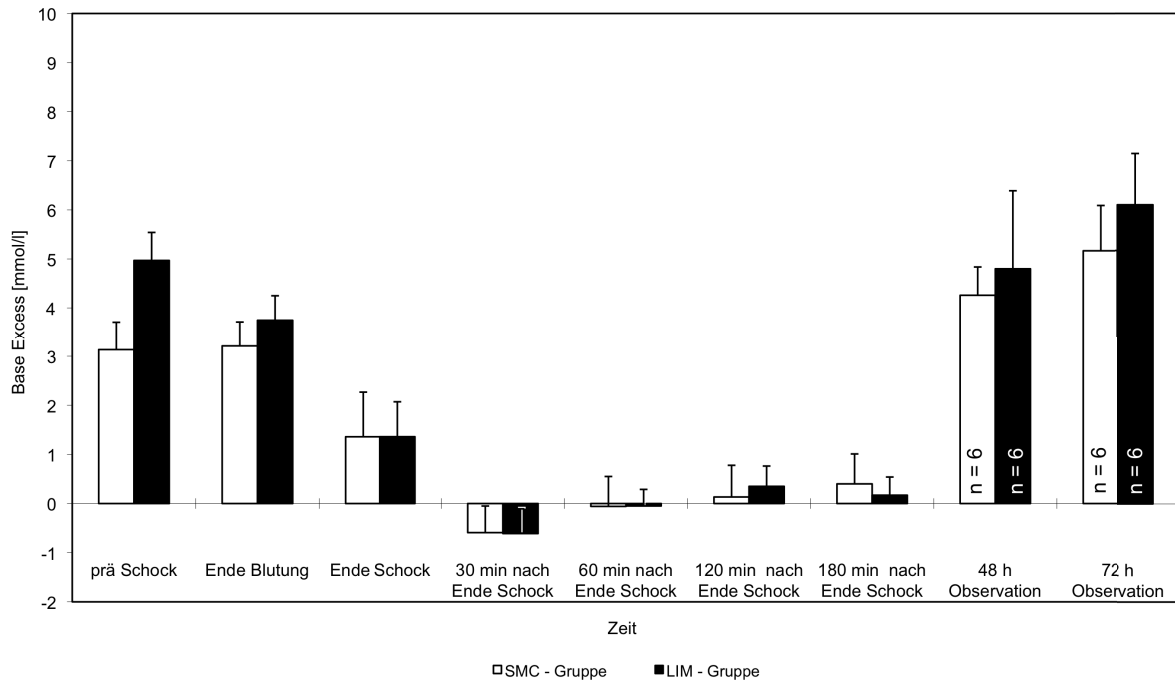


Abb.7 zeigt den Basenüberschuss im arteriellen Blut zu ausgesuchten Zeitpunkten während des Experiments. Es sind die Werte der SMC - und der LIM - Gruppe zu den ausgewählten Zeitpunkten im Vergleich dargestellt. Beide Gruppen hatten eine Größe von 12 Tieren, wobei die Gruppengröße zu den Nachbeobachtungszeitpunkten 48 h und 72 h, wie im Diagramm aufgeschlüsselt, unterschiedlich waren. Als Fehlerindikator ist der Standardfehler des Arithmetischen Mittelwertes (SEM) dargestellt.

Nach Anlage der Katheter und vor Beginn des Schocks war der Basenüberschuss in der SMC - Gruppe kleiner als in der LIM - Gruppe (3,13 mmol/l \pm 0,58 bei der SMC - Gruppe und 4,97 mmol/l \pm 0,57 bei der LIM - Gruppe). Nach der Entblutungsphase war der Basenüberschuss in der SMC - Gruppe leicht gestiegen, wobei der BE in der LIM - Gruppe sank (3,21 mmol/l \pm 0,51 bei der SMC - Gruppe und 3,75 mmol/l \pm 0,50 bei der LIM - Gruppe). Am Ende der Schock - Phase war der Basenüberschuss in der SMC - Gruppe deutlich gesunken, in der LIM - Gruppe sogar noch etwas mehr (1,38 mmol/l \pm 0,79 bei der SMC - Gruppe und 1,36 mmol/l \pm 0,71 bei der LIM - Gruppe). In beiden Gruppen war der Basenüberschuss 30 Minuten nach Ende der Schockphase im negativen Bereich,

Ergebnisse

wobei sich die Werte beider Gruppen einander annäherten ($-0,59 \text{ mmol/l} \pm 0,54$ bei der SMC - Gruppe und $-0,61 \text{ mmol/l} \pm 0,50$ bei der LIM - Gruppe). Der Basenüberschuss war in beiden Gruppen 60 Minuten nach Ende der Schockphase wieder etwas gestiegen und nun in beiden Gruppen nahezu gleich ($-0,06 \text{ mmol/l} \pm 0,61$ bei der SMC - Gruppe und $-0,05 \text{ mmol/l} \pm 0,34$ bei der LIM - Gruppe). In beiden Gruppen war der Basenüberschuss 120 Minuten nach Ende der Schockphase bereits wieder in den positiven Bereich angestiegen, wobei der Basenüberschuss in der LIM - Gruppe etwas stärker gestiegen war ($0,13 \text{ mmol/l} \pm 0,64$ bei der SMC - Gruppe und $0,35 \text{ mmol/l} \pm 0,41$ bei der LIM - Gruppe). Der Basenüberschuss beider Gruppen war 180 Minuten nach Ende der Schockphase weiterhin knapp im positiven Bereich, jedoch hatte jetzt die SMC - Gruppe einen etwas größeren Basenüberschuss als die LIM - Gruppe ($0,40 \text{ mmol/l} \pm 0,61$ bei der SMC - Gruppe und $0,17 \text{ mmol/l} \pm 0,37$ bei der LIM - Gruppe). Bei den Tieren mit 48 h Nachbeobachtungszeit lag der Basenüberschuss in beiden Gruppen deutlich im positiven Bereich, wobei der Basenüberschuss beider Gruppen recht ähnlich war ($4,26 \text{ mmol/l} \pm 0,58$ bei der SMC - Gruppe und $4,8 \text{ mmol/l} \pm 1,59$ bei der LIM - Gruppe). Bei den Tieren, die 72 h nachbeobachtet wurden zeigte sich ein ähnliches Bild, jedoch war die Differenz zwischen LIM - und SMC - Gruppe etwas größer ($5,17 \text{ mmol/l} \pm 0,92$ bei der SMC - Gruppe und $6,10 \text{ mmol/l} \pm 1,05$ bei der LIM - Gruppe). Es konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede beider Gruppen zueinander festgestellt werden.

Ergebnisse

5.8. Lactat

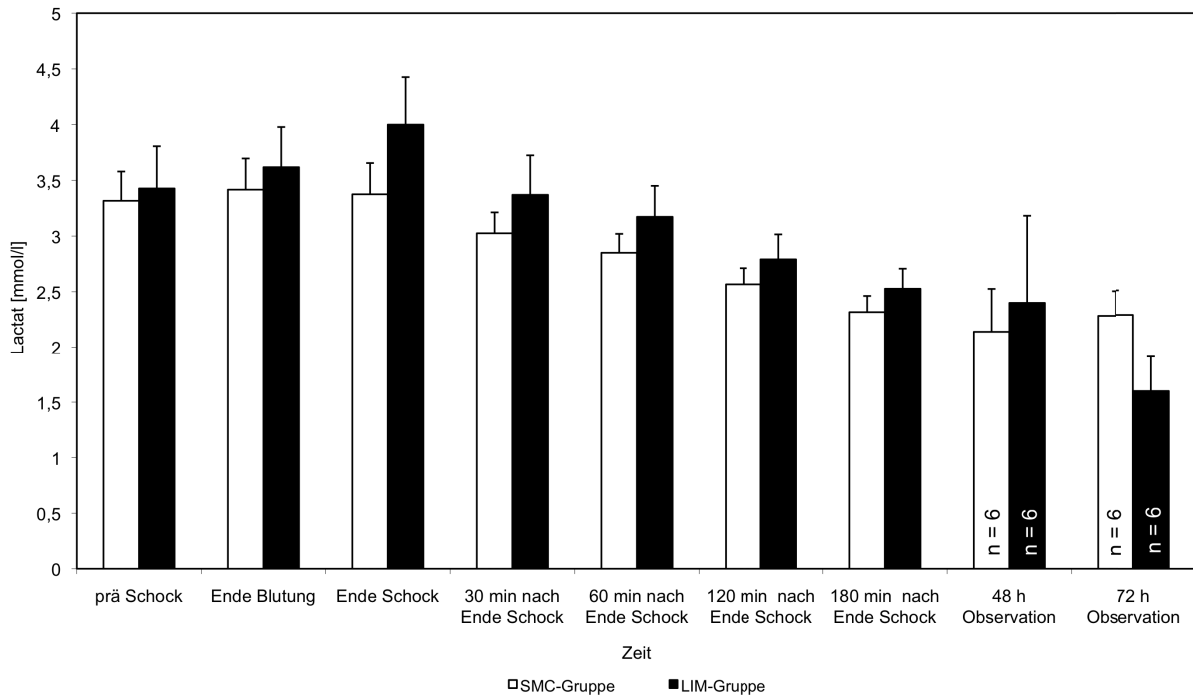


Abb. 8 zeigt die arteriell gemessene Lactatkonzentration der SMC - im Vergleich zur LIM - Gruppe. Es sind die Werte der SMC - Gruppe und der LIM - Gruppe zu den ausgewählten Zeitpunkten im Vergleich dargestellt. Beide Gruppen hatten eine Größe von 12 Tieren, wobei die Gruppengröße zu den Nachbeobachtungszeitpunkten 48 h und 72 h, wie im Diagramm aufgeschlüsselt, unterschiedlich waren. Als Fehlerindikator ist der Standardfehler des Arithmetischen Mittelwertes (SEM) dargestellt.

Zu Beginn des Versuches, also nach Anlage der Katheter, zeigte sich in beiden Gruppen eine ähnliche Lactatkonzentration im Blut (3,32 mmol/l \pm 0,26 bei der SMC - Gruppe und 3,43 mmol/l \pm 0,38 bei der LIM - Gruppe). Am Ende der Entblutungsphase war die Lactatkonzentration in beiden Gruppen etwas gestiegen, in der LIM - Gruppe etwas mehr (3,42 mmol/l \pm 0,28 bei der SMC - Gruppe und 3,62 mmol/l \pm 0,36 bei der LIM - Gruppe). Nach Ende der Schockphase war die Lactatkonzentration in der LIM - Gruppe weiter gestiegen, wobei sie in der SMC - Gruppe sogar leicht gefallen war (3,38 mmol/l \pm 0,28 bei der SMC - Gruppe und 4,00 mmol/l \pm 0,43 bei der LIM - Gruppe). Die Lactatkonzentration war in beiden Gruppen 30 Minuten nach Ende der Schockphase und Infusion der

Ergebnisse

Reperfusionslösung wieder etwas gesunken (3,03 mmol/l \pm 0,19 bei der SMC - Gruppe und 3,37 mmol/l \pm 0,35 bei der LIM - Gruppe). In beiden Gruppen war die Lactatkonzentration 60 Minuten nach Ende der Schockphase weiter gesunken, wobei der Unterschied zwischen beiden Gruppen in etwa konstant blieb (2,85 mmol/l \pm 0,17 bei der SMC - Gruppe und 3,17 mmol/l \pm 0,28 bei der LIM - Gruppe). Die Lactatkonzentration war 120 Minuten nach Ende der Schockphase in beiden Gruppen weiter abgesunken (2,57 mmol/l \pm 0,14 bei der SMC - Gruppe und 2,79 mmol/l \pm 0,22 bei der LIM - Gruppe). Bei SMC - und LIM - Gruppe war die Lactatkonzentration 180 Minuten nach Ende der Schockphase und kurz vor Ende der Narkose noch etwas weiter gesunken (2,32 mmol/l \pm 0,15 bei der SMC - Gruppe und 2,53 mmol/l \pm 0,18 bei der LIM - Gruppe). Bei den Tieren, die 48 h nachbeobachtet wurden lag die Lactatkonzentration bei der SMC - Gruppe niedriger als bei der LIM - Gruppe (2,14 mmol/l \pm 0,39 bei der SMC - Gruppe und 2,40 mmol/l \pm 0,78 bei der LIM - Gruppe). Bei den Tieren, die 72 h nachbeobachtet wurden, zeigte sich bei der SMC - Gruppe eine höhere Lactatkonzentration als bei denen der LIM - Gruppe (2,28 mmol/l \pm 0,22 bei der SMC - Gruppe und 1,6 mmol/l \pm 0,31 bei der LIM - Gruppe). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Lactatkonzentration bei der SMC - Gruppe vor und im Schock etwa unverändert blieb, danach mit der Reperfusion abfiel und nach 48 h und 72 h annähernd gleich war. Bei der LIM - Gruppe zeigte sich ein leichter Anstieg der Lactatkonzentration im Schock. Danach fiel die Lactatkonzentration mit der Reperfusion ab. Bei den 48 h nachbeobachteten Tieren der LIM - Gruppe war die Lactatkonzentration nur wenig höher als bei der SMC - Gruppe. Bei den 72 h nachbeobachteten Tieren der LIM - Gruppe zeigte sich eine leicht niedrigere Lactatkonzentration als in der SMC - Gruppe. Die Unterschiede beider Gruppen waren statistisch nicht signifikant.

5.9. Temperatur

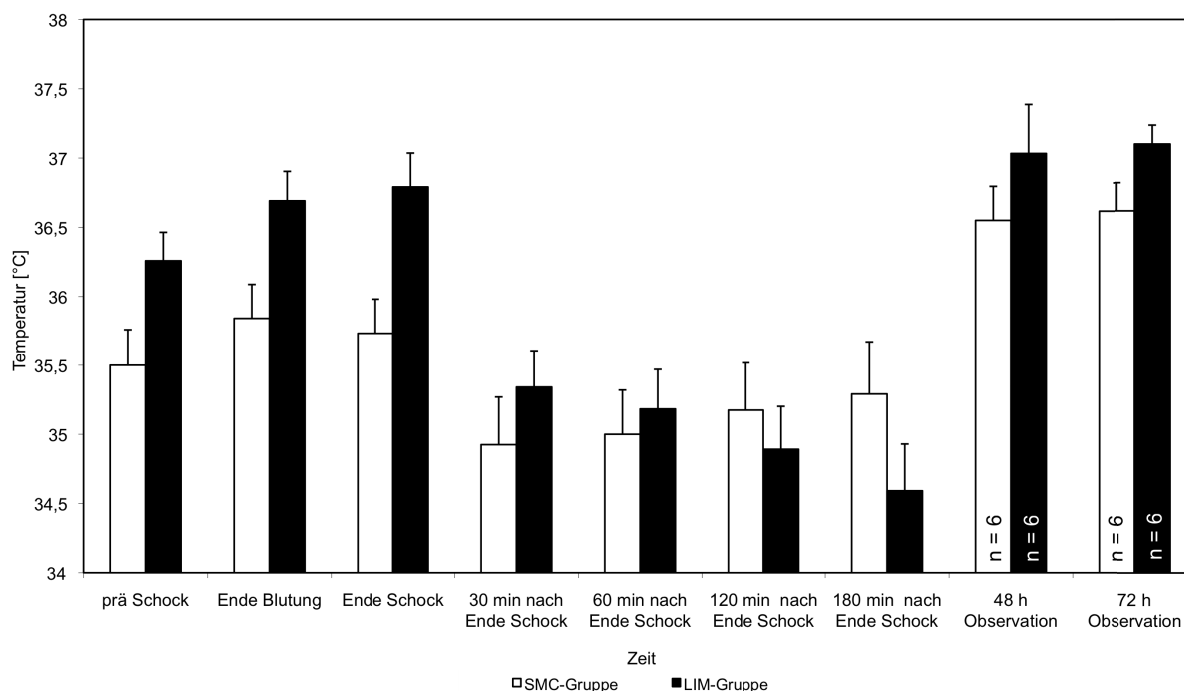


Abb. 9 zeigt die mittels Swan & Ganz-Katheter gemessene Temperatur in der Pulmonalarterie. Es sind die Werte in [°C] der SMC- und der LIM-Gruppe zu den ausgewählten Zeitpunkten im Vergleich dargestellt. Beide Gruppen hatten eine Größe von 12 Tieren, wobei die Gruppengröße zu den Nachbeobachtungszeitpunkten 48 h und 72 h, wie im Diagramm aufgeschlüsselt, unterschiedlich waren. Als Fehlerindikator ist der Standardfehler des Arithmetischen Mittelwertes (SEM) dargestellt.

Bereits zu Beginn des Versuches wurden in beiden Gruppen verschiedene Temperaturen gemessen ($35,50\text{ °C} \pm 0,26$ bei der SMC-Gruppe und $36,26\text{ °C} \pm 0,21$ bei der LIM-Gruppe). Nach Schockeinleitung stieg die Temperatur in beiden Gruppen ($35,84\text{ °C} \pm 0,25$ bei der SMC-Gruppe und $36,69\text{ °C} \pm 0,21$ bei der LIM-Gruppe). Gegen Ende des Schocks war die Temperatur in der LIM-Gruppe weiter gestiegen, wogegen die Temperatur bei der SMC-Gruppe wieder etwas abgefallen war ($35,73\text{ °C} \pm 0,25$ bei der SMC-Gruppe und $36,79\text{ °C} \pm 0,24$ bei der LIM-Gruppe). Nach Beginn der Reperfusion von Ringerlösung mit Raumtemperatur sank die Bluttemperatur in beiden Gruppen deutlich. Zum Zeitpunkt 30 Minuten nach Beginn der Reperfusion bzw. der nach Ende der Schockphase lag die Temperatur in beiden Gruppen über 1 °C unter der

Ergebnisse

zuvor gemessenen Temperatur ($34,93\text{ °C} \pm 0,34$ bei der SMC - Gruppe und $35,34\text{ °C} \pm 0,27$ bei der LIM - Gruppe). Nun entwickelten sich die Temperaturen beider Gruppen unterschiedlich, wobei zu erwähnen ist, dass die SMC - Gruppe keinen extrakorporalen Kreislauf hatte. Die Bluttemperatur der SMC - Gruppe stieg wieder stetig an, wohingegen die der LIM - Gruppe bis zum Ende des LIM -Einsatzes stetig abfiel. Zum Zeitpunkt 60 Minuten nach Ende des Schocks stieg die Temperatur der SMC - Gruppe leicht an und die der LIM - Gruppe fiel ab ($35,00\text{ °C} \pm 0,32$ bei der SMC - Gruppe und $35,18\text{ °C} \pm 0,29$ bei der LIM - Gruppe). 120 Minuten nach Ende des Schocks war die Temperatur in der SMC - Gruppe weiter leicht gestiegen und die der LIM - Gruppe weiter leicht gefallen ($35,18\text{ °C} \pm 0,34$ bei der SMC - Gruppe und $34,89\text{ °C} \pm 0,31$ bei der LIM - Gruppe). Die Temperatur der SMC - Gruppe 180 Minuten nach Ende des Schocks stieg weiter leicht an, wohingegen die der LIM - Gruppe weiter leicht fiel ($35,29\text{ °C} \pm 0,38$ bei der SMC - Gruppe und $34,59\text{ °C} \pm 0,34$ bei der LIM - Gruppe). Bei der Nachbeobachtung zeigte sich, dass die Bluttemperatur der LIM - Gruppe höher als die der SMC - Gruppe war. Nach 48 h und 72 h Nachbeobachtungszeit war der Unterschied zwischen SMC - Gruppe und LIM - Gruppe fast gleich. Die Bluttemperatur 48 h nach Beginn des Versuches war bei der SMC - Gruppe etwas niedriger als bei der LIM - Gruppe ($36,33\text{ °C} \pm 0,25$ bei der SMC - Gruppe und $37,03\text{ °C} \pm 0,35$ bei der LIM - Gruppe). Auch 72 h nach Beginn des Versuches war die Bluttemperatur der SMC - Gruppe unter dem Wert der LIM - Gruppe ($36,83\text{ °C} \pm 0,20$ bei der SMC - Gruppe und $37,10\text{ °C} \pm 0,14$ bei der LIM - Gruppe).

6. Diskussion

6.1. Überblick

Im vorliegenden Tiermodell mit hämorrhagischem Schock und anschließender Reperfusion war eine Beeinträchtigung der Hämodynamik, eine Beeinflussung der Aktivität der neutrophilen Granulozyten und eine Gewebeschädigung im Gastrointestinaltrakt, in der Lunge und in der Leber während des Überwachungszeitraums nachweisbar. Es soll im Folgenden diskutiert werden, ob bei dem durchgeführten Schockmodell eine ausreichende posthämorrhagische Inflammation vorlag, um die Wirkung extrakorporaler Immuntherapien überprüfen zu können. Die extrakorporale Immuntherapie mit dem Leukozyten - Inhibitions - Modul führte zu teilweise signifikanten Unterschieden im Bezug auf schockassoziierte Folgeerscheinungen in unterschiedlichen Bereichen. Es ist zu diskutieren, in wieweit diese Unterschiede auf die extrakorporale Immuntherapie mittels LIM zurückzuführen sind. Hierzu werden unterschiedliche Teilaspekte einzeln berücksichtigt.

6.2. Theorie

Hyperaktive neutrophile Granulozyten spielen eine Schlüsselrolle im Rahmen inflammatorischer Reaktionen nach hämorrhagischem Schock. Die hyperaktiven neutrophilen Granulozyten können eine Gewebeschädigung induzieren (wie in Abschnitt 3.4. beschrieben). Die Arbeitshypothese bestand darin, dass das Leukozyten - Inhibitions - Modul Folgezustände einer posthämorrhagischen Inflammationsreaktion limitieren kann.

In vorhergehenden Arbeiten wurde bereits gezeigt, dass der Kontakt von neutrophilen Granulozyten mit membrangebundenen agonistischen anti - FasL

Diskussion

Antikörpern, diese innerhalb von Minuten inaktivieren, bevor Apoptosezeichen detektierbar sind (27, Cinatl, et al., 2000).

Das führte zu der Annahme, dass immobilisierte agonistische anti - FasL Antikörper therapeutisch genutzt werden könnten. Hierdurch könnte die Hyperaktivierung der neutrophilen Granulozyten und die danach folgenden schädigenden Effekte der neutrophilen Granulozyten limitiert werden. Somit könnte eine Gewebeschädigung durch neutrophile Granulozyten (wie in Abschnitt 3.4. beschrieben) vermindert werden. Außerdem zeigten vorangegangene Arbeiten, dass funktionsfähige, auf biokompatiblen Materialien gebundene Antikörper zur extrakorporalen Immuntherapie besser geeignet sind als die systemische Applikation der Antikörper, da bei systemischer Applikation unerwünschte Nebeneffekte wie Lebertoxizität und Lungenfibrose auftreten (22, Chang, et al., 2003; 54, Hagimoto, et al., 1997). Aus den genannten Gründen und um neutrophile Granulozyten effektiv in der Frühphase der posthämorrhagischen Immundysregulation zu inaktivieren, wurde das Leukozyten - Inhibitions - Modul (LIM) benutzt. Die neutrophilen Granulozyten migrieren nach Aktivierung relativ schnell durch die Gefäßwände in das Gewebe, das die entsprechenden Zytokine aussendet, oder bilden sogar intravasale Sequester und beginnen sofort mit ihrer zerstörerischen Wirkung (wie in Abschnitt 3.4. beschrieben). Da mit einer extrakorporalen Immuntherapie ausschließlich die intravasal vorhandenen neutrophilen Granulozyten erreicht werden können, erscheint es sinnvoll, die neutrophilen Granulozyten mit dem LIM in Kontakt zu bringen, bevor sie in das Gewebe abwandern können. Es erscheint außerdem sinnvoll, diese Kaskade möglichst früh zu durchbrechen, um Gewebeschäden erst gar nicht entstehen zu lassen (18, Brown, et al., 2006). Um das Experiment möglichst realitätsnah durchzuführen, wurde das LIM zu einem Zeitpunkt eingesetzt, der nach der initialen Stabilisierung nach hämorrhagischem Schock auch unter klinischen

Diskussion

Vorraussetzungen möglich wäre. Hierzu wurde das LIM in dem vorliegenden hämorrhagischen Schock / Reperfusion - Modell beim Schwein mittels extrakorporalem Kreislauf eingesetzt. Der Einsatz geschah etwa eine Stunde nach Beginn des hämorrhagischen Schock und unmittelbar nach der Reperfusion. Im Bezug auf eine klinische Situation wäre der Zeitpunkt vergleichbar mit der Phase, in der ein Patient auf der Intensivstation ankommt.

Das LIM funktioniert auf der Basis immobilisierter agonistischer anti - Fas IgM - Antikörper. Diese sind kovalent auf einem Polyurethanschaum gebunden und soweit immobilisiert, dass die Antikörper nicht in die Blutbahn gelangen und dort Schäden anrichten können (wie in Abschnitt 3.5 beschrieben). Dass dieses Konzept zu Erfolgen führen kann, konnte bereits an herzchirurgischen Patienten gezeigt werden (96, Scholz, et al., 2005; 98, Scholz, et al., 2004).

6.3. Modell

Es konnte gezeigt werden, dass durch das vorliegende hämorrhagische Schockmodell eine Inflammationsreaktion mit Vermehrung bzw. Mobilisierung der neutrophilen Granulozyten aus dem Knochenmark stattfindet (81, Ott, 2010). Hierdurch wurde davon ausgegangen, dass eine Überprüfung der Funktion des LIM möglich ist. Es ist jedoch zu diskutieren, ob die verursachte Inflammation ausreichend ist, um Unterschiede eines einzelnen Faktors auf ein komplexes biologisches System herauszuarbeiten. Mit diesem Modell ist es nicht möglich, einen Überlebensvorteil einer der Versuchsgruppen nachzuweisen, da die Tiere bereits nach 48 bzw. 72 h euthanasiert wurden, um histologische Untersuchungen durchzuführen. Vor allem SIRS und Sepsis - Patienten, bei denen „Second Hit Ereignisse“ häufig zu einer Entgleisung der immunologischen Situation führen, überleben die ersten Tage und entwickeln dann eine gravierende inflammatorische

Diskussion

Reaktion. Hierdurch zeigt sich eine veränderte Sterberate erst über die Zeit (7, Angus, et al., 2001; 58, Ho, et al., 2006; 72, Maier, et al., 2007).

Gegenstand der vorliegenden Untersuchungen waren Blutdruck, Herzfrequenz, Herzminutenvolumen, Säure - Basen - Haushalt und gemischtvenöse Sauerstoffsättigung. Anhand der verbesserten Überlebenswahrscheinlichkeit von SIRS und Sepsis - Patienten, die mit „Early Goal Directed Therapy“ behandelt werden, liegt die Vermutung nahe, dass beispielsweise ein sich schneller erholender Blutdruck in der LIM - Gruppe ein Hinweis auf eine höhere Überlebenswahrscheinlichkeit ist, bzw. eine bessere Ausgangslage darstellt, um weitere Kompromittierungen zu verkraften (12, Bauer, 2003; 21, Carlet, 2006; 23, Chapman, et al., 2005; 24, Chen, et al., 2007; 32, Dorrian and Lim, 2006; 41, Focht, et al., 2009; 44, Gaieski and Goyal, 2006; 51, Guinn, et al., 2007; 52, Gunn, et al., 2005; 55, He, et al., 2007). Da im Rahmen der „Early Goal Directed Therapy“ jedoch viele Faktoren mitbehandelt werden und der Blutdruck nur ein Teil davon ist, kann letztendlich keine Aussage darüber getroffen werden, ob die vorliegenden Daten auf einen Überlebensvorteil einer der Gruppen hindeuten. Die mit diesem Modell gewonnenen Ergebnisse können jedoch als Hinweis darauf gelten, dass das LIM durch seinen Einfluss auf die posthämorrhagische Inflammation indirekt auch einen Einfluss auf die posthämorrhagische Hämodynamik hat. Ein weiterer Punkt, der die Aussagekraft dieses Modells einschränken könnte, ist die Tatsache, dass nur in einer Gruppe ein extrakorporaler Blutkreislauf etabliert wurde. Hierdurch mag die Aussagekraft im Bezug auf die Ursache der Unterschiede beider Gruppen geschmälert werden, da bekannt ist, dass eine extrakorporale Zirkulation Einfluss auf Inflammation haben kann (116, Wanner, et al., 1997). Jedoch muss man auch anführen, dass alle bekannten Effekte einer extrakorporalen Zirkulation eher proinflammatorisch wirken (73, Manni, et al., 1982). Somit müsste die Gruppe mit

extrakorporaler Zirkulation eine stärkere Inflammation aufweisen als die Gruppe ohne extrakorporale Zirkulation. In vorhergehenden Arbeiten zeigte sich, dass keine adversen Effekte durch den Einsatz eines offenporigen Polyurethanschaumes zu erwarten sind (3, Abdel-Rahman, et al., 2007; 96, Scholz, et al., 2005). Letztendlich kann nicht bewiesen werden, dass der Effekt der Verbesserung der Hämodynamik auf den Einsatz des LIM - Systems zurückzuführen ist. Es ist noch zu erwähnen, dass ein MAP - kontrolliertes hämorrhagisches Schock - Modell bei narkotisierten Tieren besonderen Einflußfaktoren unterliegt, denn die Tiere werden teilweise durch die Narkose ihrer physiologischen Kompensationsmechanismen beraubt. Daher ist zu diskutieren, ob es MAP - kontrolliert überhaupt möglich ist, in diesem Modell vergleichbare hämorrhagische Schocks durchzuführen, da die Narkosetiefe ein den Blutdruck und die Herzfrequenz beeinflussender Faktor ist (47, Goelz, et al., 1990; 74, Marksches-Hornung, et al., 1984). Hierdurch könnte eine Fehldeutung des Schockstadiums vorliegen.

6.4. Statistische Auswertung

Ein weiterer Einflussfaktor auf die gewonnenen Ergebnisse könnte die relativ kleine Gruppengröße von 12 Tieren sein. Hierdurch sind zufällige Häufungen nicht vollständig auszuschließen. Insgesamt ist das vorliegende Modell jedoch als geeignet zu bewerten, da die vorher definierten Ziele erreicht werden konnten und somit eine Berechnung der statistischen Signifikanz möglich wurde. Eine weitere Fehlerquelle könnte die halbierte Gruppengröße bei den Nachbeobachtungszeitpunkten sein, sodass es denkbar wäre, eine zufällige Häufung guter oder auch schlechter Parameter erhalten zu haben. Physiologischerweise sind starke interindividuelle Schwankungen bei Blutdruck und Herzfrequenz sowie Herzzeitvolumen vorhanden. Hierdurch wird es noch wichtiger, ausreichende

Fallzahlen zu untersuchen, um die Fehlerwahrscheinlichkeit möglichst gering zu halten. In diesem Zusammenhang ist auf den Tierschutz zu achten und es sollten nur so viele Tiere untersucht werden, dass eine ausreichend niedrige Fehlerwahrscheinlichkeit vorliegt.

6.5. Vorliegende Ergebnisse

6.5.1. *Hämodynamik*

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass die Inaktivierung der neutrophilen Granulozyten bei posthämorrhagischer Inflammation Einfluss auf die posthämorrhagische Hämodynamik hat. Weiterhin stellten sich statistisch signifikante Unterschiede nach 72 h beim mittleren arteriellen Druck sowie beim Herzminutenvolumen heraus. Die Tiere, die mit LIM behandelt wurden, zeigten hierbei bessere Werte als die Tiere der SMC - Gruppe. Diese Ergebnisse müssen jedoch hinterfragt werden, da nach 48 h kein signifikanter Unterschied in den beiden Gruppen im Bezug auf die eben genannten Parameter zu verzeichnen war. Eine mögliche Erklärung hierfür kann eine durch Hyperaktivierung verursachte Gewebeschädigung sein (wie unter 3.4 beschrieben), die erst zu einem späteren Zeitpunkt nachvollzogen werden kann, da sich bei den durch das LIM „geschützten“ Tieren die hämodynamischen Parameter ebenfalls erholen mussten.

6.5.2. *mittlerer arterieller Druck*

Der mittlere arterielle Druck wurde über einen Katheter, welcher in der Arteria carotis platziert wurde, gemessen. Daran war ein Drucksystem mit einer Schlauchlänge von ca. 1,5 m angeschlossen. Die hierdurch entstehende Dämpfung in Rohrleitungssystemen wirkt sich auf den arteriellen Mitteldruck eher gering aus (15,

Diskussion

Birkhan and Heifetz, 1972; 29, Cunningham, et al., 1994). Man kann also davon ausgehen, dass die Messung valide und konstant ist. Der hämorrhagische Schock wurde hauptsächlich anhand des MAP kontrolliert und durch Blutentnahmen während der Schockphase aufrechterhalten. Nach der Schockphase wurde der MAP durch Reperfusion von Ringerlösung wieder erhöht. Am Nachbeobachtungszeitpunkt wurde kein weiterer Einfluss auf den MAP ausgeübt. Der MAP unterlag zu diesem Zeitpunkt der physiologischen Blutdruckregelung des Versuchstieres. Die Messergebnisse zeigen einen signifikanten Unterschied bei dem Nachbeobachtungszeitpunkt 72 h. Hier zeigt sich, dass in der LIM Gruppe ein höherer, dem Ausgangsdruck ähnlicherer Wert zu messen war. Nach den statistischen Auswertungen konnte festgestellt werden, dass der Unterschied signifikant war. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte der Einsatz des LIM Systems sein. Um eine sichere Aussage darüber treffen zu können, müssten größere Gruppen untersucht werden. Es war bisher nicht bekannt, zu welchem Zeitpunkt nach Unterschieden im Bezug auf die posthämorrhagische Hämodynamik gesucht werden sollte. Die differenten Ergebnisse bei 48 h Nachbeobachtungszeit und bei 72 h Nachbeobachtungszeit können als Hinweis darauf gewertet werden, dass mögliche Unterschiede nicht zu jedem Zeitpunkt nachweisbar sind und sich die möglichen positiven Effekte des LIM erst nach einer gewissen Latenz auf den MAP auswirken. Es ist zu diskutieren, inwieweit die Narkose Einfluss auf den MAP ausgeübt hat. Bekanntermaßen wirkt die verwendete Inhalationsnarkose blutdrucksenkend (113, van den Berg and Honjol, 1993). Es ist zu hinterfragen, inwieweit die Kontrolle des hämorrhagischen Schocks hierdurch beeinflusst wird. Es kommt die Frage auf, ob durch die narkoseinduzierte Hypotension der hämorrhagische Schock milder war als in anderen MAP - kontrollierten

Schockmodellen mit anderen Narkoseverfahren. Aufgrund fehlender Vergleiche kann hier keine abschließende Antwort erfolgen.

6.5.3. Herzzeitvolumen

Das Herzminutenvolumen ist ebenfalls davon abhängig, wie die Druckverhältnisse im Gesamtorganismus sind und wie gut die Regulationsmechanismen in einer Situation wie der vorliegenden noch funktionieren. Die Reduktion des Herzminutenvolumens posthämorrhagisch kann darauf zurückgeführt werden, dass die physiologischen Effekte der Hämorrhagie Wirkung zeigen (63, Kaihara, et al., 1969; 85, Rakusan and Rajhathy, 1973). In der vorliegenden Untersuchung konnte gezeigt werden, dass ein deutlich HZV - relevanter hämorrhagischer Shock vorliegt, da nach Blutverlust das Herzminutenvolumen bis auf 1,5 l/min abfiel. Darauf folgend stieg das Herzminutenvolumen wieder an. Nach 48 h war kein signifikanter Unterschied in beiden Gruppen festzustellen, nach 72 h war das Herzminutenvolumen in der LIM - Gruppe signifikant höher als in der SMC - Gruppe. Eine mögliche Erklärung hierfür kann die durch das LIM verhinderte Permeabilitätserhöhung sein, die bekanntermaßen durch posthämorrhagische Aktivierung neutrophiler Granulozyten entstehen kann (18, Brown, et al., 2006; 59, Hoesel, et al., 2005; 62, Jordan, et al., 1999; 82, Partrick, et al., 1996; 97, Scholz, et al., 2007). Dadurch kann die Blutdruckregulation sowie die Regulation des Herzminutenvolumens gestört werden. Dies könnte dazu führen, dass posthämorrhagisch ein erniedrigtes Herzminutenvolumen vorliegt. Wenn die neutrophilen Granulozyten nun in ihrer Aktivität gehemmt werden, ist es vorstellbar, dass posthämorrhagisch schneller wieder ein normwertiges Herzminutenvolumen vorliegt. An den erhobenen Daten ist zu sehen, dass sich das Herzminutenvolumen nach 72 h bei der LIM - Gruppe dem Ausgangswert stark angenähert hat, bei der SMC - Gruppe war es noch deutlich

niedriger. Hieraus kann die Möglichkeit abgeleitet werden, dass der Einsatz des LIM positiven Einfluss auf die posthämorrhagische Erholung des Herzminutenvolumens im vorliegenden Modell hat.

6.5.4. gemischtvenöse Sauerstoffsättigung

Die Auswertung der vorliegenden Daten zeigt eine höhere gemischtvenöse Sauerstoffsättigung in der LIM - Gruppe als in der SMC - Gruppe 72 h posthämorrhagisch. Hierbei liegt das Signifikanzniveau bei $p=0,0625$. Eine Erklärung hierfür könnte sein, dass das Herzminutenvolumen in direktem Zusammenhang zur gemischtvenösen Sauerstoffsättigung steht (1, 1968; 25, Cheney and Colley, 1980; 64, Kelman, et al., 1967; 103, Solares and Qualls, 1994; 107, Takala, 2007; 112, Turek, et al., 1978). Ein weiterer Aspekt, der die gemischtvenöse Sauerstoffsättigung beeinflussen könnte, ist die posthämorrhagische Entwicklung eines ARDS (40, Fletcher, et al., 1988; 45, Gando, et al., 2004; 80, Ogawa, 1989; 115, Wang, et al., 2009). Hierbei spielen die neutrophilen Granulozyten eine wesentliche Rolle (82, Partrick, et al., 1996; 109, Toda, et al., 2007; 110, Togo, et al., 2008; 114, van Meurs, et al., 2007). Eine Inaktivierung der neutrophilen Granulozyten könnte zu einer Verbesserung der gemischtvenösen Sauerstoffsättigung beitragen. Dies geschieht durch Verhinderung einer vermehrten Elastaseproduktion und infolge der Aufrechterhaltung der normalen Gefäßpermeabilität und somit der normalen O_2 - Diffusionstrecke in der Lunge. Die Sauerstoffausschöpfung durch die anderen Organe kann sich ebenfalls auf die gemischtvenöse Sauerstoffsättigung auswirken. Hierbei kommt es zu einer vermehrten Sauerstoffausschöpfung im Gewebe bei erhöhter Permeabilität und einer geringeren gemischtvenösen Sauerstoffsättigung. Insgesamt gibt es hier jedoch noch keinen signifikanten Unterschied zwischen LIM

und SMC - Gruppe. Somit scheint es aufgrund der positiven Tendenz bei Einsatz des LIM sinnvoll zu sein, diesen Aspekt weiter zu untersuchen.

6.5.5. Herzfrequenz und Hämodynamik

Im Bezug auf die posthämorrhagische Herzfrequenz konnten keine Unterschiede in den beiden untersuchten Gruppen festgestellt werden. Es zeigte sich, dass die Herzfrequenz nach 48 h und nach 72 h in beiden Gruppen beinahe wieder normwertig war. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte sein, dass die Tiere durch die Reperfusion und das Angebot an Trinkwasser in der Nachbeobachtungszeit bereits nicht mehr hypovoläm waren und somit eine normale Herzfrequenz zeigten. Anhand der Herzfrequenz und des arteriellen Mitteldruckes im Verlauf des Versuches konnte nachvollzogen werden, dass ein hämorrhagischer Schock vorlag. Hierzu kann beispielsweise der Schock Index (5, Allgower and Burri, 1967; 6, Allgower and Burri, 1968; 14, Birkhahn, et al., 2005; 20, Burri, 1968) oder die Stadieneinteilung des hämorrhagischen Schocks (38, Falk, et al., 1992) herangezogen werden. Hiermit interferierende Parameter können beispielsweise die Narkose sein. Es ist bekannt, dass Lachgas und Isofluran Einfluss auf die hämodynamischen Parameter wie Blutdruck und Herzfrequenz haben. Da diese Einflüsse allerdings bei Beginn der Narkose am stärksten auftreten und für alle Tiere gleich waren, ist zu vermuten, dass das Monitoring des hämorrhagischen Schocks anhand des Blutdrucks und der Herzfrequenz zu gewährleisten ist (35, Einarsson, et al., 1997; 37, Erol and Ozen, 2007; 43, Fukao, et al., 1994; 124, Zubicki, et al., 1998).

Für die nur in Teilbereichen gezeigte verbesserte Hämodynamik ist eine mögliche Erklärung, dass der hämorrhagische Schock nicht ausgeprägt genug war, um eine ausreichende Inflammation hervorzurufen, die einen deutlicheren Effekt des LIM auf

Diskussion

die posthämorrhagische Hämodynamik zeigt. In einer Studie wurde die LD 50 unter anderem für den MAP bei deutschen Landrace Pigs ermittelt. Dieser lag bei 27 mmHg (89, Rixen, et al., 2001). Die in dem vorliegenden Experiment verwendeten Schweine hatten ihren tiefsten MAP bei 35 ± 5 mmHg. Hieraus könnte sich die Konsequenz ergeben, dass die posthämorrhagische Inflammation nicht ausgeprägt genug war, um eine ausreichende Immundysregulation hervorzurufen, sodass in weiten Bereichen die physiologischen Kompensationsmechanismen verhindert haben, dass hämodynamische Unterschiede in allen Bereichen nachzuweisen sind. Des Weiteren wurde im Vergleich zur der o.g. Arbeitsgruppe ein anderes Narkoseverfahren verwendet, das möglicherweise in die Autoregulation der Organismen der Tiere eingreift und somit eine physiologische Kompensation verhindert, sodass bereits ein niedriger Blutdruck erreicht wurde, obwohl im Bezug auf das Gesamtblutvolumen eines Tieres ein kleinerer Anteil entnommen wurde. Eine weitere mögliche Erklärung für das Ausbleiben statistisch signifikanter Vorteile bei beiden Nachbeobachtungszeitpunkten könnte darin liegen, dass es schwierig ist, einen geeigneten Zeitraum zur Therapie und auch zur Nachbeobachtung zu finden, da man nicht genau weiß, wann die stärkste posthämorrhagische Immundysregulation stattfindet.

6.5.6. Säure - Basen - Haushalt

Der Säure - Basen - Haushalt wurde während des Versuches mittels 10 - minütigen arteriellen Blutgasanalysen überwacht. In der Nachbeobachtungszeit wurden 24 h, 48 h, und 72 h weitere Blutgasanalysen durchgeführt. Hiermit konnten der Elektrolythaushalt, der pH - Wert, das Bicarbonat, das Lactat sowie der Basenüberschuss bestimmt werden.

Diskussion

Bei keinem der erwähnten Werte konnten statistisch signifikante Unterschiede festgestellt werden. Hierfür könnte eine mögliche Erklärung sein, dass der hämorrhagische Schock nicht ausgereicht hat, um deutlich pathologische Werte im Bezug auf den Säure - Basen - Haushalt zu erzeugen. Es besteht die Möglichkeit, dass die Tiere in der Lage waren, die entstandene Azidose während des Schocks zu kompensieren, ohne dass hierbei Veränderungen im Bezug auf Base Excess, Lactat und Bicarbonat messbar wurden. Es konnte bereits gezeigt werden, dass der hämorrhagische Schock bzw. dessen Ausmaß anhand von Lactat und Base Excess überwacht werden kann (89, Rixen, et al., 2001). In dieser Studie wurde im Unterschied zum vorliegenden Modell ein anderes Narkoseverfahren mit Etomidate und einem Opiat benutzt. Außerdem wurde eine andere Schweinerasse verwendet, wovon möglicherweise auch Unterschiede in den Ergebnissen herrühren können. Bekanntermaßen entsteht nach hämorrhagischem Schock und Reperfusion eine Azidose mit Anstieg von Lactat (34, Dunham, et al., 1991; 46, Garnett, et al., 1989). Im vorliegenden Experiment konnte kein Lactatanstieg nachvollzogen werden, allerdings konnte während des Schocks eine leichte Absenkung des pH - Wertes beobachtet werden. Während des restlichen Experiments wurden eher alkalische pH-Werte bei den Tieren gemessen. In diesem Zusammenhang ist zu bemerken, dass eine mögliche Erklärung für die alkalischen pH-Werte die Beatmung sein könnte, da bekanntermaßen einer Hyperventilation zu einer respiratorischen Alkalose führt (84, Pierson, 1990). Es ist letzten Endes mit den vorliegenden Daten nicht zu klären, woher diese Diskrepanz rührt.

6.5.7. Temperatur

Die Temperatur wurde im Blut mittels Swan & Ganz - Katheter gemessen. In beiden Gruppen lagen die Tiere auf einer Wärmematte, die eine Temperatur von 38 °C

Diskussion

aufwies. Die Temperatur stieg zu Beginn des Versuches in beiden Gruppen leicht an, in der LIM - Gruppe etwas stärker. Da zuvor eine etwas differente Ausgangstemperatur vorlag ist zu vermuten, dass dieser Unterschied durch interindividuelle Unterschiede der Tiere zustande kam, da bis zu diesem Zeitpunkt kein Unterschied im Prozedere in beiden Gruppen vorlag. Nach Reperfusion von Ringer - Lösung mit Raumtemperatur konnte in beiden Gruppen eine deutliche Absenkung der Temperatur festgestellt werden. Es hat sich gezeigt, dass während der LIM - Phase die Temperatur in der LIM - Gruppe weiter sank. Die niedrigste Temperatur lag bei 34,59 °C. In der SMC - Gruppe die Temperatur jedoch leicht anstieg. In diesem Zusammenhang ist auf die extrakorporale Zirkulation hinzuweisen, die zu einer Kühlung des Blutes während des Durchflusses durch das LIM - System führen kann. Es stellt sich die Frage inwieweit der Unterschied in der Temperatur in beiden Gruppen Einfluss auf die gewonnenen Ergebnisse hat. Es konnte für den festgestellten Unterschied keine statistische Signifikanz nachgewiesen werden. Jedoch gibt es Hinweise darauf, dass eine elektive Hypothermie bei Bypassoperationen den Adenosintriphosphat - Gehalt in den Zellen aufrechterhält und bei Traumaassoziierter Hypothermie ein sinkendes Adenosintriphosphat in den Zellen gemessen werden kann und somit ein Einfluss auf die Immunregulation besteht (100, Seekamp, et al., 1999). Es ist nun zu Überlegen welche Form der Hypothermie in diesem Setting zutrifft. Da die Tiere vor der Operation normotherm waren und selbst während der LIM - Phase im niedrig normotherm bzw. leicht hypotherm waren ist in diesem Zusammenhang eher von einer induzierten Hypothermie zu sprechen und nicht davon auszugehen, dass diese einen wesentlichen Einfluss auf die Funktion des Immunsystems oder die Blutgerinnung hat (57, Hildebrand F, 2004). Letztenendes ist jedoch nicht

auszuschließen, dass die unterschiedliche Temperatur in beiden Gruppen, die gemessenen Effekte in den Verschiedenen Bereichen verursacht hat.

6.6. Zusammenfassung

Es konnte gezeigt werden, dass das LIM eine Wirkung auf die posthämorrhagische Inflammation und damit indirekt auch auf die posthämorrhagische Hämodynamik hat. Es kam zu einer Reduktion der relativen Häufigkeit der neutrophilen Granulozyten während der Behandlungsphase (81, Ott, 2010). Histopathologisch konnte gezeigt werden, dass in der Lunge weniger neutrophile Granulozyten zu finden waren. Auch im Herzen, in der Leber, in der Niere und im Darm waren leicht weniger neutrophile Granulozyten zu finden bei den Tieren, die mit LIM behandelt wurden als in der SMC - Gruppe (81, Ott, 2010). Darüber hinaus waren die CK - Werte bei der LIM - Gruppe niedriger als bei der SMC Gruppe, jedoch nur nach 72 Stunden Beobachtungszeit. Aufgrund von sehr hohen Standardabweichungen nach 24 und 48 Stunden ist die Interpretation dieser Daten nur eingeschränkt möglich (71, Loegters, 2010). Eine mögliche mechanistische Erklärung für die gesammelten Ergebnisse könnte sein, dass die Behandlung mit dem LIM - System die Sterblichkeit der zirkulierenden neutrophilen Granulozyten beeinträchtigt, was teilweise dazu führen könnte, dass die neutrophilen Granulozyten nicht mehr ins Gewebe transmigrieren. Die wohlbekannteste zerstörerische Wirkung der neutrophilen Granulozyten auf körpereigenes Gewebe, wie beispielsweise auf die Integrität von endothelialen und epithelialen Zellschichten, die Beeinträchtigung der Mikrozirkulation sowie die Induktion von oxidativem Stress mit daraus folgender Lipidperoxydation, wie bereits unter 3.4 beschrieben (99, Schuller, et al., 2005), könnte durch das LIM begrenzt werden. Tatsächlich konnte in vorangegangenen Studien gezeigt werden, dass mit dem LIM die chemotaktische Aktivität der

Diskussion

neutrophilen Granulozyten gesenkt werden konnte (95, Scholz and Cinatl, 2005). Hierin zeigte sich, dass Schock/Resuscitation - induzierte Haemoxygenase - 1 (HO - 1) Expression, wahrscheinlich als Folge des posthämorrhagischen oxidativen Stress (33, Douzinas, et al., 2004; 87, Rensing, et al., 2001), bei der LIM - Gruppe in der Lunge, Leber und Darm eindeutig limitiert (71, Loegters, 2010) wurde, also in Organen, die bei traumatisierten Patienten häufig kompromittiert werden (36, Engler, et al., 1983). Es ist bekannt, dass HO - 1 durch oxidativen Stress induziert wird. Es ist bekannt, dass hierdurch vor durch hämorrhagischen Schock induzierter Gewebeerstörung geschützt wird (87, Rensing, et al., 2001)

Die Erkenntnis, dass Genexpression und Proteinexpression von HO - 1 in der LIM - Gruppe niedriger sind, könnte eine Folge reduzierter Infiltration der neutrophilen Granulozyten und von reduziertem, durch neutrophile Granulozyten verursachtem oxidativem Stress sein (94, Schek, 2010).

Schock induzierte Lipidperoxydation wurde nur im Darm beobachtet. Es scheint keine Korrelation zwischen der Stärke der Lipidperoxydation und der Infiltration durch neutrophile Granulozyten zu geben, da im Darm nur eine geringe Anzahl neutrophiler Granulozyten nach dem Schock zu finden war. Im Kontrast dazu wurden in der Lamina propria bei der SMC - Gruppe hohe Zahlen apoptotischer Zellen gefunden, jedoch nicht in der LIM - Gruppe, was darauf hindeutet, dass die Inhibition peripher zirkulierender neutrophiler Granulozyten während der posthämorrhagischen Entzündungsreaktion zu einer Protektion beitragen könnte. Gleichmaßen wurde die schockinduzierte Apoptose im Lungengewebe durch das LIM reduziert (71, Loegters, 2010). Die hierfür verantwortlichen Mechanismen müssen noch geklärt werden. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte sein, dass das LIM vor dem vorhin beschriebenen No - Reflow - Phänomen schützt, welches damit verbunden ist, dass neutrophile

Diskussion

Granulozyten in die Kapillaren abgesondert werden. Dadurch wird eine Gewebeerstörung in der Abwesenheit von nachweisbaren neutrophilen Granulozyten hervorgerufen (36, Engler, et al., 1983).

Es liegt nahe, dass die mittels LIM aktivierte Fas Signalkaskade der neutrophilen Granulozyten während der frühen posthämorrhagischen oder posttraumatischen Phase, die inflammationsinduzierten Spät komplikationen wie SIRS, Sepsis und Multiorganversagen vermindern könnte. Der Zeitpunkt der Inhibition neutrophiler Granulozyten muss sorgfältig gewählt werden, da durch die Inhibierung der Aktivität der neutrophilen Granulozyten die antibakteriellen und phagozytischen Effekte der neutrophilen Granulozyten vermindert werden könnten, welche essentiell bei der Verhinderung einer Sepsis sind (72, Maier, et al., 2007; 92, Sauer, et al., 2009).

Auf der anderen Seite könnte das Verhindern der Zerstörung von beispielsweise Epithel in Lunge oder Intestinum eine spätere bakterielle Dissemination und Sepsis verhindern.

Weitere Studien, die die potentiellen klinischen Behandlungsmöglichkeiten und die Vorteile von neutrophilen Fas - gesteuerten Immuntherapien nach hämorrhagischem Schock oder schwerem Trauma untersuchen, werden angestrebt.

Weiterhin ist eine verbesserte Hämodynamik zwar ein wegweisender Parameter für das Überleben nach schwerem Trauma, aber eine Studie mit dem Endpunkt des posthämorrhagischen Überlebens, könnte eine aussagekräftigere Bestätigung des Benefits durch das LIM - System im Bezug auf die posthämorrhagische Überlebenschance hervorbringen.

Trotz dieser Einschränkungen in der Beurteilbarkeit der Ergebnisse, erreichten einzelne Tiere bessere Werte, vor allem bei HZV und MAP, sodass dies als Hinweis

Diskussion

auf die Wirksamkeit der extrakorporalen Immunmodulation mittels LIM zu werten ist. Dies sollte jedoch in weiteren Studien überprüft werden, um die Wirksamkeit der LIM - Therapie im Bezug auf Verbesserung der Hämodynamik nachzuweisen.

Es bleibt trotz allem noch die Frage offen, in wieweit die tierexperimentell gewonnenen Daten auf den menschlichen Organismus übertragbar sind. Die gezeigte Wirksamkeit des LIM im kardiochirurgischen Bereich zeigt zum einen die Unbedenklichkeit des Systems und zum anderen dessen Wirksamkeit. Es ist zwar immer noch spekulativ hier einen Zusammenhang zu unterstellen, jedoch ist zu diskutieren, ob eine erste Testung des Systems im humanmedizinischen Bereich bei posthämorrhagischen Patienten zu rechtfertigen ist.

6.6.1. Ziele der Arbeit

Es konnte ein hämorrhagisches Schockmodell im Schwein erfolgreich etabliert werden. Hiermit besteht die Möglichkeit, extrakorporale Immuntherapien wie das LIM in ihrem Einfluss auf verschiedene posthämorrhagische Parameter zu untersuchen

Es konnte der Einfluss des LIM auf die posthämorrhagische Hämodynamik untersucht und in diesem Zusammenhang gezeigt werden, dass die extrakorporale Immuntherapie mit LIM eine Verbesserung bestimmter hämodynamischer Parameter 72 h posthämorrhagisch bewirkt.

Es konnte weiterhin der Einfluss des LIM auf den posthämorrhagischen Säure - Basen - Haushalt untersucht werden. Hierbei konnte eine wie in der Literatur beschriebene posthämorrhagische Tendenz zur Azidose nachvollzogen werden, wobei allerdings keine wesentliche Lactaterhöhung zu messen war und während der Nachbeobachtungszeit eher alkalische pH-Werte zu messen waren. Der

Diskussion

posthämorrhagische Säure - Basen - Haushalt zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen LIM - Gruppe und SMC - Gruppe.

7. Referenzen

1. (1968); Influence of cardiac output on arterial oxygenation; Br J Anaesth 40: 394-395
2. (2001); Guidelines for the management of severe sepsis and septic shock. The International Sepsis Forum; Intensive Care Med 27 Suppl 1: S1-134
3. Abdel-Rahman U, Margraf S, Aybek T, Logters T, Bitu-Moreno J, Francischetti I, Kranert T, Grunwald F, Windolf J, Moritz A, Scholz M; (2007); Inhibition of neutrophil activity improves cardiac function after cardiopulmonary bypass; J Inflamm (Lond) 4: 21
4. Albelda SM, Smith CW, Ward PA; (1994); Adhesion molecules and inflammatory injury; FASEB J 8: 504-512
5. Allgower M, Burri C; (1967); ["Shock index"]; Dtsch Med Wochenschr 92: 1947-1950
6. Allgower M, Burri C; (1968); Shock-index; Ger Med Mon 13: 14-19
7. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR; (2001); Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care; Crit Care Med 29: 1303-1310
8. Angus DC, Pereira CA, Silva E; (2006); Epidemiology of severe sepsis around the world; Endocr Metab Immune Disord Drug Targets 6: 207-212
9. Astiz ME, DeGent GE, Lin RY, Rackow EC; (1995); Microvascular function and rheologic changes in hyperdynamic sepsis; Crit Care Med 23: 265-271
10. Audebert FX, Hanses F, Schneidewind A, Ehrenstein B, Blaas S, Salzberger B, Scholmerich J, Frohlich D, Straub RH, Gluck T; (2007); [Epidemiology of severe sepsis at a German university hospital]; Med Klin (Munich) 102: 195-202
11. Balk RA; (2000); Severe sepsis and septic shock. Definitions, epidemiology, and clinical manifestations; Crit Care Clin 16: 179-192
12. Bauer M; (2003); [Early goal-directed therapy in sepsis. Old wine in new skins?]; Anaesthesist 52 Suppl 1: S16-19
13. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, LaRosa SP, Dhainaut JF, Lopez-Rodriguez A, Steingrub JS, Garber GE, Helterbrand JD, Ely EW, Fisher CJ, Jr.; (2001); Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis; N Engl J Med 344: 699-709
14. Birkhahn RH, Gaeta TJ, Terry D, Bove JJ, Tloczkowski J; (2005); Shock index in diagnosing early acute hypovolemia; Am J Emerg Med 23: 323-326
15. Birkhan HJ, Heifetz M; (1972); Continuous direct monitoring of mean arterial pressure; Anaesthesia 27: 103

Referenzen

16. Bracken MB; (2005); CRASH (Corticosteroid Randomization after Significant Head Injury Trial): landmark and storm warning; *Neurosurgery* 57: 1300-1302; discussion 1300-1302
17. Brown KA (1994) Role of endothelial cells in the pathogenesis of vascular damage. In: *Antibodies to endothelial cells and vascular damage*. CRC Press, pp. 27–46.
18. Brown KA, Brain SD, Pearson JD, Edgeworth JD, Lewis SM, Treacher DF; (2006); Neutrophils in development of multiple organ failure in sepsis; *Lancet* 368: 157-169
19. Brown KA, Lewis SM, Hill TA, Macey MG, McCarthey DA, Grant VA, Treacher DF; (2001); Leucodepletion and the interaction of polymorphonuclear cells with endothelium in systemic inflammatory response syndrome; *Perfusion* 16 Suppl: 75-83
20. Burri C; (1968); [Arterial pressure, pulse, "shock index" and central venous pressure in 30 hypovolemic patients]; *Langenbecks Arch Chir* 320: 1-7
21. Carlet J; (2006); Early goal-directed therapy of septic shock in the emergency room: who could honestly remain skeptical?; *Crit Care Med* 34: 2842-2843
22. Chang B, Nishikawa M, Sato E, Inoue M; (2003); Mice lacking inducible nitric oxide synthase show strong resistance to anti-Fas antibody-induced fulminant hepatitis; *Arch Biochem Biophys* 411: 63-72
23. Chapman M, Gattas D, Suntharalingam G; (2005); Why is early goal-directed therapy successful - is it the technology?; *Crit Care* 9: 307-308
24. Chen ZQ, Jin YH, Chen H, Fu WJ, Yang H, Wang RT; (2007); [Early goal-directed therapy lowers the incidence, severity and mortality of multiple organ dysfunction syndrome]; *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* 27: 1892-1895
25. Cheney FW, Colley PS; (1980); The effect of cardiac output on arterial blood oxygenation; *Anesthesiology* 52: 496-503
26. Chou WH, Choi DS, Zhang H, Mu D, McMahon T, Kharazia VN, Lowell CA, Ferriero DM, Messing RO; (2004); Neutrophil protein kinase Cdelta as a mediator of stroke-reperfusion injury; *J Clin Invest* 114: 49-56
27. Cinatl J, Jr., Blaheta R, Bittoova M, Scholz M, Margraf S, Vogel JU, Cinatl J, Doerr HW; (2000); Decreased neutrophil adhesion to human cytomegalovirus-infected retinal pigment epithelial cells is mediated by virus-induced up-regulation of Fas ligand independent of neutrophil apoptosis; *J Immunol* 165: 4405-4413
28. Cotev S, Perel A, Katzenelson R, Eimerl D; (1976); The effect of PEEP on oxygenating capacity in acute respiratory failure with sepsis; *Crit Care Med* 4: 186-192

Referenzen

29. Cunningham S, Symon AG, McIntosh N; (1994); Changes in mean blood pressure caused by damping of the arterial pressure waveform; *Early Hum Dev* 36: 27-30
30. Daniels RH, Finnen MJ, Hill ME, Lackie JM; (1992); Recombinant human monocyte IL-8 primes NADPH-oxidase and phospholipase A2 activation in human neutrophils; *Immunology* 75: 157-163
31. Donnelly SC, Strieter RM, Kunkel SL, Walz A, Robertson CR, Carter DC, Grant IS, Pollok AJ, Haslett C; (1993); Interleukin-8 and development of adult respiratory distress syndrome in at-risk patient groups; *Lancet* 341: 643-647
32. Dorrian S, Lim M; (2006); Early goal-directed therapy in the emergency department; *Emerg Med Australas* 18: 206-207; author reply 207-208
33. Douzinas EE, Kollias S, Tiniakos D, Evangelou E, Papalois A, Rapidis AD, Tsoukalas GD, Patsouris E, Roussos C; (2004); Hypoxemic reperfusion after 120 mins of intestinal ischemia attenuates the histopathologic and inflammatory response; *Crit Care Med* 32: 2279-2283
34. Dunham CM, Siegel JH, Weireter L, Fabian M, Goodarzi S, Guadalupi P, Gettings L, Linberg SE, Vary TC; (1991); Oxygen debt and metabolic acidemia as quantitative predictors of mortality and the severity of the ischemic insult in hemorrhagic shock; *Crit Care Med* 19: 231-243
35. Einarsson S, Bengtsson A, Stenqvist O, Bengtson JP; (1997); Emergence from isoflurane/N2O or isoflurane anaesthesia; *Acta Anaesthesiol Scand* 41: 1292-1299
36. Engler RL, Schmid-Schonbein GW, Pavelec RS; (1983); Leukocyte capillary plugging in myocardial ischemia and reperfusion in the dog; *Am J Pathol* 111: 98-111
37. Erol DD, Ozen I; (2007); Is general anesthesia a risk for myocardium? Effect of anesthesia on myocardial function as assessed by cardiac troponin-i in two different groups (isofluran+N2O inhalation and propofol+fentanyl iv anesthesia); *Vasc Health Risk Manag* 3: 755-758
38. Falk JL, O'Brien JF, Kerr R; (1992); Fluid resuscitation in traumatic hemorrhagic shock; *Crit Care Clin* 8: 323-340
39. Fink MP, Evans TW; (2002); Mechanisms of organ dysfunction in critical illness: report from a Round Table Conference held in Brussels; *Intensive Care Med* 28: 369-375
40. Fletcher MP, Vassar MJ, Holcroft JW; (1988); Patients with adult respiratory distress syndrome (ARDS) demonstrate in vivo neutrophil activation associated with diminished binding of neutrophil-specific monoclonal antibody 31D8; *Inflammation* 12: 455-473
41. Focht A, Jones AE, Lowe TJ; (2009); Early goal-directed therapy: improving mortality and morbidity of sepsis in the emergency department; *Jt Comm J Qual Patient Saf* 35: 186-191

Referenzen

42. Fourrier F; (2004); Recombinant human activated protein C in the treatment of severe sepsis: an evidence-based review; *Crit Care Med* 32: S534-541
43. Fukao I, Dohi S, Katoh T, Akamatsu S, Shimonaka H; (1994); [The concentration effects of isoflurane-N₂O anesthesia on cardiovascular responses to skin incision]; *Masui* 43: 1851-1856
44. Gaieski D, Goyal M; (2006); The implementation of new therapies for severe sepsis: some questions raised by "early goal-directed therapy, corticosteroid, and recombinant human activated protein c for the treatment of severe sepsis and septic shock in the emergency department"; *Acad Emerg Med* 13: 997-999; author reply 999-1000
45. Gando S, Kameue T, Matsuda N, Sawamura A, Hayakawa M, Kato H; (2004); Systemic inflammation and disseminated intravascular coagulation in early stage of ALI and ARDS: role of neutrophil and endothelial activation; *Inflammation* 28: 237-244
46. Garnett AR, Glauser FL, Ornato JP; (1989); Hypercarbic arterial acidemia following resuscitation from severe hemorrhagic shock; *Resuscitation* 17: 55-61
47. Goelz MF, Hahn AW, Kelley ST; (1990); Effects of halothane and isoflurane on mean arterial blood pressure, heart rate, and respiratory rate in adult Pekin ducks; *Am J Vet Res* 51: 458-460
48. Gonzalez-Amaro R, Sanchez-Madrid F; (1999); Cell adhesion molecules: selectins and integrins; *Crit Rev Immunol* 19: 389-429
49. Granger DN, Kubes P; (1994); The microcirculation and inflammation: modulation of leukocyte-endothelial cell adhesion; *J Leukoc Biol* 55: 662-675
50. Greenstein S, Barnard J, Zhou K, Fong M, Hendey B; (2000); Fas activation reduces neutrophil adhesion to endothelial cells; *J Leukoc Biol* 68: 715-722
51. Guinn DA, Abel DE, Tomlinson MW; (2007); Early goal directed therapy for sepsis during pregnancy; *Obstet Gynecol Clin North Am* 34: 459-479, xi
52. Gunn SR, Fink MP, Wallace B; (2005); Equipment review: the success of early goal-directed therapy for septic shock prompts evaluation of current approaches for monitoring the adequacy of resuscitation; *Crit Care* 9: 349-359
53. Guthrie LA, McPhail LC, Henson PM, Johnston RB, Jr.; (1984); Priming of neutrophils for enhanced release of oxygen metabolites by bacterial lipopolysaccharide. Evidence for increased activity of the superoxide-producing enzyme; *J Exp Med* 160: 1656-1671
54. Hagimoto N, Kuwano K, Miyazaki H, Kunitake R, Fujita M, Kawasaki M, Kaneko Y, Hara N; (1997); Induction of apoptosis and pulmonary fibrosis in mice in response to ligation of Fas antigen; *Am J Respir Cell Mol Biol* 17: 272-278

Referenzen

55. He ZY, Gao Y, Wang XR, Hang YN; (2007); [Clinical evaluation of execution of early goal directed therapy in septic shock]; Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue 19: 14-16
56. Heckbert SR, Vedder NB, Hoffman W, Winn RK, Hudson LD, Jurkovich GJ, Copass MK, Harlan JM, Rice CL, Maier RV; (1998); Outcome after hemorrhagic shock in trauma patients; J Trauma 45: 545-549
57. Hildebrand F PV, Giannoudis, Martijn van Griensven, Mayur Chawda, Hans-Christoph Pape; (2004); Pathophysiologic changes and effects of hypothermia on outcome in elective surgery and trauma patients; American Journal of Surgery 187: 363-371
58. Ho BC, Bellomo R, McGain F, Jones D, Naka T, Wan L, Braitberg G; (2006); The incidence and outcome of septic shock patients in the absence of early-goal directed therapy; Crit Care 10: R80
59. Hoesel LM, Neff TA, Neff SB, Younger JG, Olle EW, Gao H, Pianko MJ, Bernacki KD, Sarma JV, Ward PA; (2005); Harmful and protective roles of neutrophils in sepsis; Shock 24: 40-47
60. Ibbotson GC, Doig C, Kaur J, Gill V, Ostrovsky L, Fairhead T, Kubes P; (2001); Functional alpha4-integrin: a newly identified pathway of neutrophil recruitment in critically ill septic patients; Nat Med 7: 465-470
61. Ichikawa Y, Nojima M, Kyo M, Yazawa K, Hanafusa T, Ebisui C, Tsubakihara Y, Fukunishi T, Nagano S; (2000); Acute rejection and the therapeutic choice of drug; Transplant Proc 32: 1759-1760
62. Jordan JE, Zhao ZQ, Vinten-Johansen J; (1999); The role of neutrophils in myocardial ischemia-reperfusion injury; Cardiovasc Res 43: 860-878
63. Kaihara S, Rutherford RB, Schwentker EP, Wagner HN, Jr.; (1969); Distribution of cardiac output in experimental hemorrhagic shock in dogs; J Appl Physiol 27: 218-222
64. Kelman GR, Nunn JF, Prys-Roberts C, Greenbaum R; (1967); The influence of cardiac output on arterial oxygenation: a theoretical study; Br J Anaesth 39: 450-458
65. Kollef MH, Sherman G, Ward S, Fraser VJ; (1999); Inadequate antimicrobial treatment of infections: a risk factor for hospital mortality among critically ill patients; Chest 115: 462-474
66. Kuwahara H, Tani Y, Ogawa Y, Takaichi Y, Shiraishi A, Ohtsuki M; (2001); Therapeutic effect of novel anti-human Fas antibody HFE7a on graft-versus-host disease model; Clin Immunol 99: 340-346
67. Lee A, Whyte MK, Haslett C; (1993); Inhibition of apoptosis and prolongation of neutrophil functional longevity by inflammatory mediators; J Leukoc Biol 54: 283-288

Referenzen

68. Lefering R, Neugebauer EA; (1995); Steroid controversy in sepsis and septic shock: a meta-analysis; Crit Care Med 23: 1294-1303
69. Lenz A, Franklin GA, Cheadle WG; (2007); Systemic inflammation after trauma; Injury 38: 1336-1345
70. Lieschke GJ, Grail D, Hodgson G, Metcalf D, Stanley E, Cheers C, Fowler KJ, Basu S, Zhan YF, Dunn AR; (1994); Mice lacking granulocyte colony-stimulating factor have chronic neutropenia, granulocyte and macrophage progenitor cell deficiency, and impaired neutrophil mobilization; Blood 84: 1737-1746
71. Loegters A, Paunel, Sager, Witte, Ott, Sadek, Baltés, Bitu-Moreno, Schek, Müller, Jeri, Windolf, Scholz; (2010); Extracorporeal immune therapy with immobilized agonistic anti-Fas antibodies leads to transient reduction of circulating neutrophil numbers and limits tissue damage after hemorrhagic shock/resuscitation in a porcine model; Journal of Inflammation; unpublizierte Daten; Status: Akzeptiert
72. Maier B, Lefering R, Lehnert M, Laurer HL, Steudel WI, Neugebauer EA, Marzi I; (2007); Early versus late onset of multiple organ failure is associated with differing patterns of plasma cytokine biomarker expression and outcome after severe trauma; Shock 28: 668-674
73. Manni C, Scrascia E, Magalini SI, De Francisci G; (1982); [Immunologic evaluation of patients under extracorporeal circulation]; Minerva Med 73: 1241-1245
74. Marksches-Hornung A, Hess W, Schulte-Sasse U, Tarnow J; (1984); [Blood pressure control with an inhalation anesthetic in acute intraoperative hypertension. Hemodynamic profile of halothane, enflurane and isoflurane in coronary surgery patients]; Anaesthesist 33: 284-290
75. Matsuno H, Yudoh K, Nakazawa F, Sawai T, Uzuki M, Nishioka K, Yonehara S, Nakayama J, Ohtsuki M, Kimura T; (2002); Antirheumatic effects of humanized anti-Fas monoclonal antibody in human rheumatoid arthritis/SCID mouse chimera; J Rheumatol 29: 1609-1614
76. McGill SN, Ahmed NA, Hu F, Michel RP, Christou NV; (1996); Shedding of L-selectin as a mechanism for reduced polymorphonuclear neutrophil exudation in patients with the systemic inflammatory response syndrome; Arch Surg 131: 1141-1146; discussion 1147
77. Mitzner SR, Stange J, Klammt S, Peszynski P, Schmidt R, Noldge-Schomburg G; (2001); Extracorporeal detoxification using the molecular adsorbent recirculating system for critically ill patients with liver failure; J Am Soc Nephrol 12 Suppl 17: S75-82
78. Moreno JB, Margraf S, Schuller AM, Simon A, Moritz A, Scholz M; (2004); Inhibition of neutrophil activity in cardiac surgery with cardiopulmonary bypass: a novel strategy with the leukocyte inhibition module; Perfusion 19: 11-16

Referenzen

79. Ogasawara J, Watanabe-Fukunaga R, Adachi M, Matsuzawa A, Kasugai T, Kitamura Y, Itoh N, Suda T, Nagata S; (1993); Lethal effect of the anti-Fas antibody in mice; *Nature* 364: 806-809
80. Ogawa M; (1989); [Neutrophil elastase and the lung, with special reference to the pathogenesis of ARDS]; *Kokyu To Junkan* 37: 1258-1269
81. Ott A; (2010); Untersuchung zum Einfluss des Leukozyten-Inhibitions-Moduls auf die posthämorrhagische Aktivierung von neutrophilen Granulozyten im Tiermodell; Dissertationsschrift; unpublizierte Daten
82. Partrick DA, Moore FA, Moore EE, Barnett CC, Jr., Silliman CC; (1996); Neutrophil priming and activation in the pathogenesis of postinjury multiple organ failure; *New Horiz* 4: 194-210
83. Paterson RL, Webster NR; (2000); Sepsis and the systemic inflammatory response syndrome; *J R Coll Surg Edinb* 45: 178-182
84. Pierson; (1990); Complications associated with mechanical ventilation; *Crit Care Clin*: 711-724
85. Rakusan K, Rajhathy J; (1973); Distribution of cardiac output in unanesthetized rats after hemorrhage and in hemorrhagic shock; *Can J Surg* 16: 360-365
86. Reinhardt; (2003); Fortschritte in der Therapie der Sepsis; *Deutsches Ärzteblatt* 100: 2080-2086
87. Rensing H, Jaeschke H, Bauer I, Patau C, Datene V, Pannen BH, Bauer M; (2001); Differential activation pattern of redox-sensitive transcription factors and stress-inducible dilator systems heme oxygenase-1 and inducible nitric oxide synthase in hemorrhagic and endotoxic shock; *Crit Care Med* 29: 1962-1971
88. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, Peterson E, Tomlanovich M; (2001); Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock; *N Engl J Med* 345: 1368-1377
89. Rixen D, Raum M, Holzgraefe B, Sauerland S, Nagelschmidt M, Neugebauer EA; (2001); A pig hemorrhagic shock model: oxygen debt and metabolic acidemia as indicators of severity; *Shock* 16: 239-244
90. Roberts I, Yates D, Sandercock P, Farrell B, Wasserberg J, Lomas G, Cottingham R, Svoboda P, Brayley N, Mazairac G, Laloe V, Munoz-Sanchez A, Arango M, Hartzenberg B, Khamis H, Yutthakasemsunt S, Komolafe E, Ollidashi F, Yadav Y, Murillo-Cabezas F, Shakur H, Edwards P; (2004); Effect of intravenous corticosteroids on death within 14 days in 10008 adults with clinically significant head injury (MRC CRASH trial): randomised placebo-controlled trial; *Lancet* 364: 1321-1328
91. Rosenbloom AJ, Pinsky MR, Napolitano C, Nguyen TS, Levann D, Pencosky N, Dorrance A, Ray BK, Whiteside T; (1999); Suppression of cytokine-mediated beta2-

Referenzen

- integrin activation on circulating neutrophils in critically ill patients; *J Leukoc Biol* 66: 83-89
92. Sauer M, Altrichter J, Kreutzer HJ, Logters T, Scholz M, Noldge-Schomburg G, Schmidt R, Mitzner SR; (2009); Extracorporeal cell therapy with granulocytes in a pig model of Gram-positive sepsis; *Crit Care Med* 37: 606-613
 93. Scheel-Toellner D, Wang K, Craddock R, Webb PR, McGettrick HM, Assi LK, Parkes N, Clough LE, Gulbins E, Salmon M, Lord JM; (2004); Reactive oxygen species limit neutrophil life span by activating death receptor signaling; *Blood* 104: 2557-2564
 94. Schek A; (2010); Untersuchungen zum Einfluss des Leukozyten-Inhibitions-Moduls auf die posthämorrhagische Inflammation und Gewebehypoxie im Tiermodell; Dissertationsschrift; unpublizierte Daten
 95. Scholz M, Cinatl J; (2005); Fas/FasL interaction: a novel immune therapy approach with immobilized biologicals; *Med Res Rev* 25: 331-342
 96. Scholz M, Cinatl J, Barros RT, Lisboa AC, Genevcus CF, Margraf S, Francischetti I, Oremek G, Windolf J, Simon A, Moritz A, Bitu-Moreno J; (2005); First efficacy and safety results with the antibody containing leukocyte inhibition module in cardiac surgery patients with neutrophil hyperactivity; *ASAIO J* 51: 144-147
 97. Scholz M, Cinatl J, Schadel-Hopfner M, Windolf J; (2007); Neutrophils and the blood-brain barrier dysfunction after trauma; *Med Res Rev* 27: 401-416
 98. Scholz M, Simon A, Berg M, Schuller AM, Hacibayramoglu M, Margraf S, Theisen A, Windolf J, Wimmer-Greinecker G, Moritz A; (2004); 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* 127: 1735-1742
 99. Schuller AM, Windolf J, Blaheta R, Cinatl J, Kreuter J, Wimmer-Greinecker G, Moritz A, Scholz M; (2005); 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* 329: 616-623
 100. Seekamp A, Hildebrand F, van Griensven M, Grotz M, Tscherne H; (1999); [Role of adenosine triphosphate (ATP) in trauma-induced and elective hypothermia]; *Zentralbl Chir* 124: 1017-1029
 101. Segal AW; (1995); *Biochemistry and physiology of the neutrophil* : by Steven W. Edwards, Cambridge University Press, 1994, £35.00 (xvii + 299 pages) ISBN 0 52141698 1; *Trends in Biochemical Sciences* 20: 255-256
 102. Shibata K, Funada H; (2004); [The epidemiology of SIRS.sepsis in Japan]; *Nippon Rinsho* 62: 2184-2188
 103. Solares G, Qualls C; (1994); [Effect of changes in cardiac output on oxygenation and intrapulmonary short circuit (Qs/Qt) under inhalation anesthesia]; *Rev Esp Anesthesiol Reanim* 41: 200-204

Referenzen

104. Statistisches Bundesamt (2008) Todesursachenstatistik 2007. In: Editor (ed)^(eds) Book Todesursachenstatistik 2007. Statistisches Bundesamt Deutschland, City.
105. Stegmayr BG; (2001); Apheresis as therapy for patients with severe sepsis and multiorgan dysfunction syndrome; *Ther Apher* 5: 123-127
106. Strassheim D, Park JS, Abraham E; (2002); Sepsis: current concepts in intracellular signaling; *Int J Biochem Cell Biol* 34: 1527-1533
107. Takala J; (2007); Hypoxemia due to increased venous admixture: influence of cardiac output on oxygenation; *Intensive Care Med* 33: 908-911
108. Tanaka H, Ishikawa K, Nishino M, Shimazu T, Yoshioka T; (1996); Changes in granulocyte colony-stimulating factor concentration in patients with trauma and sepsis; *J Trauma* 40: 718-725; discussion 725-716
109. Toda Y, Takahashi T, Maeshima K, Shimizu H, Inoue K, Morimatsu H, Omori E, Takeuchi M, Akagi R, Morita K; (2007); A neutrophil elastase inhibitor, sivelestat, ameliorates lung injury after hemorrhagic shock in rats; *Int J Mol Med* 19: 237-243
110. Togo S, Matsuo K, Ishibe A, Nagano Y, Takahashi M, Mochizuki H, Osada S, Kameda K, Shimada H; (2008); Usefulness of a selective neutrophil elastase inhibitor (sivelestat) in septic ARDS patients after gastrointestinal surgery; *Hepatogastroenterology* 55: 967-973
111. Treacher DF, Sabbato M, Brown KA, Gant V; (2001); The effects of leucodepletion in patients who develop the systemic inflammatory response syndrome following cardiopulmonary bypass; *Perfusion* 16 Suppl: 67-73
112. Turek Z, Kreuzer F, Turek-Maischeider M, Ringnalda BE; (1978); Blood O₂ content, cardiac output, and flow to organs at several levels of oxygenation in rats with a left-shifted blood oxygen dissociation curve; *Pflugers Arch* 376: 201-207
113. van den Berg AA, Honjol NM; (1993); Effects of heart rate, blood pressure and bronchomotor tone of halothane, enflurane and isoflurane in young fit patients; *Middle East J Anesthesiol* 12: 271-286
114. van Meurs M, Wulfert FM, Knol AJ, De Haes A, Houwertjes M, Aarts LP, Molema G; (2007); Early Organ-Specific Endothelial Activation during Hemorrhagic Shock and Resuscitation; *Shock* Publish Ahead of Print
115. Wang Z, Chen F, Zhai R, Zhang L, Su L, Lin X, Thompson T, Christiani DC; (2009); Plasma neutrophil elastase and elafin imbalance is associated with acute respiratory distress syndrome (ARDS) development; *PLoS One* 4: e4380
116. Wanner C, Zimmermann J, Quaschnig T, Galle J; (1997); Inflammation, dyslipidemia and vascular risk factors in hemodialysis patients; *Kidney Int Suppl* 62: S53-55
117. Ward PA; (2004); The dark side of C5a in sepsis; *Nat Rev Immunol* 4: 133-142

Referenzen

118. Wheeler AP, Bernard GR; (1999); Treating patients with severe sepsis; *N Engl J Med* 340: 207-214
119. Windsor AC, Mullen PG, Fowler AA, Sugerman HJ; (1993); Role of the neutrophil in adult respiratory distress syndrome; *Br J Surg* 80: 10-17
120. Wyman TH, Bjornsen AJ, Elzi DJ, Smith CW, England KM, Kelher M, Silliman CC; (2002); A two-insult in vitro model of PMN-mediated pulmonary endothelial damage: requirements for adherence and chemokine release; *Am J Physiol Cell Physiol* 283: C1592-1603
121. Xu N, Gao XP, Minshall RD, Rahman A, Malik AB; (2002); Time-dependent reversal of sepsis-induced PMN uptake and lung vascular injury by expression of CD18 antagonist; *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 282: L796-802
122. Yang J, Jones SP, Suhara T, Greer JJ, Ware PD, Nguyen NP, Perlman H, Nelson DP, Lefer DJ, Walsh K; (2003); Endothelial cell overexpression of fas ligand attenuates ischemia-reperfusion injury in the heart; *J Biol Chem* 278: 15185-15191
123. Young LS, Martin WJ, Meyer RD, Weinstein RJ, Anderson ET; (1977); Gram-negative rod bacteremia: microbiologic, immunologic, and therapeutic considerations; *Ann Intern Med* 86: 456-471
124. Zubicki A, Gostin X, Miclea D, Riou B, Buy E, Richer C, Coriat P; (1998); Comparison of the haemodynamic actions of desflurane/N₂O and isoflurane/N₂O anaesthesia in vascular surgical patients; *Acta Anaesthesiol Scand* 42: 1057-1062

8. Curriculum vitae

PERSÖNLICHE DATEN

Name Ingo Witte

Anschrift Cyriakusstrasse 45
41468 Neuss

Kontakt E-Mail: ingo.witte@arcor.de
Tel.: 01785476669

Geburtsdatum 03.11.1977

Geburtsort Hagen

Familienstand ledig

Nationalität Deutsch

SCHULAUSBILDUNG

1984-1988 Janusz-Korszack-Grundschule, Hagen

1988-1997 Theodor Heuss Gymnasium, Hagen, Abschluss Abitur

BERUFSERFAHRUNG

1997-1998 Zivildienst in der Gustav-Heinemann-Schule für geistig behinderte Kinder in Hagen

HOCHSCHULSTUDIUM UND WEITERE LAUFBAHN

1999-2001 Studium der Romanistik an der Ruhruniversität Bochum

2001 Aufnahme des Medizinstudiums an der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf

2004 Ärztliche Vorprüfung

2007 Tätigkeit als studentische Hilfskraft in der Klinik für Unfall- und Handchirurgie des Universitätsklinikums Düsseldorf

2007-2008 Praktisches Jahr

1. Tertial: Chirurgie im Universitätsklinikum Düsseldorf
2. Tertial: Wahlfach Anästhesie im UKD
3. Tertial: Innere Medizin im Spital Frutigen (Schweiz)

28.11.2008 Staatsexamen Medizin

05.12.2008 Approbation als Arzt

17.12.2008 Assistenzarzt in der Abteilung für Unfall- und Handchirurgie der Universitätsklinik Düsseldorf

Düsseldorf, den 10. April 2010

9. Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. J. Windolf, Direktor der Klinik für Unfall- und Handchirurgie der Heinrich-Heine-Universität in Düsseldorf für die Überlassung des Themas und die wissenschaftliche Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Weiterhin gilt mein besonderer Dank Herrn Prof. Dr. phil. nat. M. Scholz für die exzellente wissenschaftliche Betreuung, die Förderung, die stets zielführende Koordination des Projektes und die immer aufmunternden Worte, wenn Schwierigkeiten zu beheben waren. Ganz herzlich möchte ich mich für die konstante, professionelle und freundschaftliche Betreuung bei Dr. med. Tim Lögters bedanken!

Ausserdem möchte ich mich herzlich bei der Arbeitsgruppe LIM bedanken, Annina Ott, Sarah Sadek, Jessica Baltes und Alberto Schek, durch die die Arbeit im Labor und in der Tierversuchsanlage viel Spaß gemacht hat.

Bei dem Team der Tierversuchsanlage, insbesondere Herrn Dr. Sager, Frau Dr. Engelhardt und Frau Schrey möchte ich mich für die Hilfestellung bei vielen Problemen und die gute Zusammenarbeit ganz herzlich bedanken.

Besonders möchte ich dem gesamtem Laborteam mit S. Segouchni, J. Schneider, und A. Paunell, des wissenschaftlichen Labors der Klinik für Unfall- und Handchirurgie der Universitätsklinik Düsseldorf danken.