

Aus der Klinik für Unfall- und Handchirurgie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. J. Windolf

**Untersuchung zum Einfluss des
Leukozyten-Inhibitions-Moduls auf die
posthämorrhagische Gewebeschädigung im Tiermodell**

– Eine experimentelle Tierversuchsstudie –

Dissertation

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

Düsseldorf

vorgelegt von

Sarah Sadek

2014

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

gez. Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf

Dekan

Erstgutachter: Prof. Dr. Windolf

Zweitgutachter: apl. Prof. Dr. Topp

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Lögters TT, Altrichter J, Paunel-Görgülü A, Sager M, Witte I, Ott A, Sadek S, Baltes J, Bitu-Moreno J, Schek A, Müller W, Jeri T, Windolf J, Scholz M: 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. *J Inflammation* 2010, 20:7:18

Zusammenfassung

Nach einem Schock kommt es zu einer starken Aktivierung des unspezifischen Immunsystems. Die Inhibierung von neutrophilen Granulozyten stellt eine Möglichkeit zur Reduktion der durch die Inflammation vermittelten potentiellen Schäden für die Organe dar. Mit Hilfe des Leukozyten-Inhibitionsmoduls (LIM), einem extrakorporalen Gehäuse mit fest gebundenen agonistischen anti-Fas-Antikörpern, kann bei neutrophilen Granulozyten selektiv der Zelltod induziert werden. Hierzu wurde ein Schockmodell am Schwein etabliert. Innerhalb dieses Projekts war es das Ziel der Arbeit von Frau Sadek zu untersuchen, inwieweit das LIM einen Einfluss auf mögliche Gewebeschäden nach einem Blutungsschock haben kann.

Die methodische Grundlage der experimentellen Arbeit stellte ein hämorrhagisches Schockmodell am Schwein dar, bei dem über insgesamt 60 Minuten eine Schockphase durch Entblutung aufrechterhalten wurde. Hiernach wurde das LIM über einen Zeitraum von 3 Stunden in einen extrakorporalen Kreislauf eingebaut.

Frau Sadek bestimmte die organspezifischen Serumparameter Creatinkinase (CK), CK-MB, Troponin-T, Alanin-Amino-Transferase (ALT) und Aspartat-Amino-Transferase (AST) sowie die hämodynamischen Parameter *Pulmonal Capillary Wedge Pressure* (PCWP) und *Mean Pulmonal Arterial Pressure* (MPAP) während der Schock- und LIM-Phase sowie nach 48 und 72 Stunden. Zudem begutachtete sie histologische Präparate der Organe Herz, Lunge, Leber, Niere und Darm in Hinblick auf Gewebeschäden.

Als Folge des Schockgeschehens waren erhöhte Werte von CK, CK-MB, Troponin-T, ALT und AST innerhalb von 24 Stunden nachweisbar, die im weiteren Verlauf wieder nahezu auf das Niveau physiologischer Werte sanken. Lediglich die CK war nach 72 Stunden in der LIM-Gruppe niedriger als in der Kontrollgruppe. In den histologischen Analysen war ein nachhaltiger Gewebeschaden in keinem der untersuchten Organe nachweisbar.

Als Folge des hämorrhagischen Schocks war als Zeichen einer möglichen Organbeeinträchtigung kurzzeitig eine Erhöhung der Serum- und Hämodynamikparameter vorhanden. Ein irreversibler Gewebeschaden in den schockrelevanten Organen war unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit nicht vorhanden.

Abkürzungsverzeichnis

ACCP	<i>American College of Chest Physician</i>
Apaf-1	<i>Apoptotic Protease Activating Factor 1</i>
APACHE III	<i>Acute Physiology And Chronic Health</i>
°C	<i>Grad Celsius</i>
CK	Creatin Kinase
Abb.	Abbildung
ADP	Adenosintriphosphat
ALT	Alanin-Amino-Transferase
AMP	Adenosinmonophosphat
ARDS	<i>Acute Respiratory Distress Syndrom</i>
AST	Aspartat-Amino-Transferase
ATP	Adenosintriphosphat
BE	<i>Base Excess</i>
BGA	Blutgasanalyse
BPM	<i>Beats per Minute</i>
CARD	<i>Caspase Activation and Recruitment Domain</i>
CD	<i>Cluster of Differentiation</i>
CO ₂	Kohlendioxid
CPAP	<i>Continuous Positive Airway Pressure</i>
CRP	C-reaktives Protein
DD	<i>Death Domain</i>
DED	<i>Death Effektor Domain</i>
DIC	<i>Disseminated Intravasal Coagulation</i>
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EGDT	<i>Early Goal Directed Therapy</i>
EKG	Elektrokardiogramm
ELAM-1	<i>Endothelial/platelet leukocyte adhesion molecule</i>
EM	Elektronenmikroskopie
GCS	<i>Glasgow-Coma-Scale</i>
G-CSF	<i>Granulocyte-Colony Stimulating Factor</i>
FiO ₂ %	Inspiratorische Sauerstofffraktion

III

GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
GM-CSF	<i>Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor</i>
h	<i>hours</i>
HE	Hämatoxylin-Eosin
HF	Herzfrequenz
HLM	Herz-Lungen-Maschine
HZV	Herz- Zeit Volumen l/min
ICAM-1	<i>Intercellular Adhesion Molecule-1</i>
IL	Interleukin
IMP	Inosinmonophosphat
IU	<i>International Units</i>
Kg	Kilogramm
l / Min.	Liter pro Minute
LAM-1	<i>Leukocyte adhesion molecule</i>
LIM	Leukozyten-Inhibitions-Modul
MAP	<i>Mean Arterial Pressure</i>
min	Minute (n)
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mmol / l	Millimol pro Liter
MODS	Multiorgandysfunctionsyndrom
MOV	Multiorganversagen
MPAP	<i>Mean Pulmonal Arterial Pressure</i>
MW	Mittelwert
n	Anzahl der Messungen
O ₂	Sauerstoff
Op	Operation
PAF	Plättchenaktivierender Faktor
PcO ₂	Sauerstoffpartialdruck
PCWP	<i>Pulmonal Capillary Wedge Pressure</i>
PMN	Polymorphnukleären neutrophile Granulozyten
PMNE	Polymorphnukleäre Elastase
RR sys.	Blutdruck systolisch
RR diast.	Blutdruck diastolisch

S / Min.	Schläge pro Minute
SAPSII	<i>Simplified Acute Physiology Score</i>
SCC	<i>Society of Critical Care Medicine</i>
SEM	<i>Standard Error of the Mean</i>
SIRS	Systemisches Inflammatorisches Response Syndrom
SLE	Systemischer Lupus Erythematodes
SMC	<i>Standard Medical Care</i>
svO ₂	Zentral venöse Sauerstoffsättigung
TGF-Beta	<i>Transforming growth factor</i>
TISS	<i>Therapeutic Intervention Scoring System</i>
TNFRsf6	<i>Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 6</i>
TNF	<i>Tumor necrosis factor</i>
TRADD	<i>Tumor necrosis factor receptor type 1-associated death domain protein</i>
U	<i>Unit</i>
VCAM	<i>Vascular Cell Adhesion Molecule</i>
ZVD	Zentral Venöser Druck

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Der Schock	2
1.1.1	Definition	2
1.1.2	Einteilung des Schocks	3
1.1.3	Pathophysiologie des Schocks	4
1.1.4	Der hypovolämisch-hämorrhagische Schock	5
1.1.4.1	Definition	5
1.1.4.2	Pathogenese	5
1.1.4.3	Ätiologie und Pathophysiologie	5
1.1.4.4	Reversibles Schockstadium	6
1.1.4.5	Irreversibles Schockstadium	7
1.1.4.6	Klinische Stadieneinteilung	8
1.1.4.7	Klinische Diagnostik und Überwachung	9
1.1.4.8	Aktuelle Therapieansätze des hypovolämisch hämorrhagischen Schocks	10
1.1.4.9	Ischämie und Reperfusionsschaden	10
1.2	Sepsis, SIRS, MODS	12
1.2.1	Definition	12
1.2.1.1	Sepsis, SIRS	12
1.2.1.2	MODS	14
1.2.2	Epidemiologie	14
1.2.3	Diagnose	15
1.2.4	Therapie	16
1.2.5	Sepsis, SIRS, MODS, MOV im Rahmen dieser Arbeit	17
1.3	Das Leukozyten-Inhibitionsmodul (LIM)	19
1.3.1	Molekulare Mechanismen	19
1.3.1.1	Der Fas-Rezeptor und die Interaktion des Fas/Fas-L Systems	19
1.3.1.2	Die Apoptose Kaskade	19
1.3.2	Aufbau	21
1.3.3	Wirkmechanismen des LIM	22
1.4	Bisheriger Einsatz	23
2	Ziele der Arbeit	25
2.1	Abgrenzung der Arbeit innerhalb des Forschungsvorhabens	25
2.2	Untersuchung der posthämorrhagischen Gewebeschädigung	26
2.3	Einfluss des LIM Verfahrens auf die Gewebeschädigung	26
3	Material und Methoden	27

3.1	Versuchstiere	27
3.1.1	Haltungsbedingungen	28
3.1.2	Prämedikation und OP-Vorbereitung	28
3.1.3	Intraoperative Anästhesie und Ventilation	28
3.1.4	Benötigte Katheter und ihre chirurgische Einführung	29
3.1.5	Suprapubischer Blasenkatheter	29
3.1.6	Arterieller Katheter	29
3.1.7	Shaldon-Katheter	30
3.1.8	Pulmonalarterienkatheter (Swan-Ganz-Katheter)	30
3.1.9	Intraoperatives Monitoring	30
3.1.10	Der hämorrhagische Schock und die LIM Phase	32
3.1.11	Nachbeobachtungsphase	34
3.1.12	Zweite Operationsphase	34
3.1.13	Obduktion/Autopsie	34
3.1.14	Histologie	35
3.1.15	Paraffineinbettung	36
3.1.16	Die Hämatoxylin-Eosin-Färbung	36
3.2	Statistik	36
3.3	Material- und Geräteliste	37
4	Ergebnisse	39
4.1	Gruppendefinition	39
4.2	Allgemeine Erläuterung	39
4.3	Serumparameter	39
4.3.1	Creatinkinase CK und CK-MB	40
4.3.2	Troponin-T	42
4.3.3	Leberspezifische Transaminasen AST und ALT	43
4.3.4	Kreatinin	45
4.4	Parameter der Hämodynamik	46
4.4.1	Pulmonalkapillärer Verschußdruck (PCWP)	47
4.4.2	Mittlerer pulmonal-arterieller Druck (MPAP)	49
4.5	Histologie	50
5	Diskussion	53
5.1	Überblick	53
5.2	LIM beim hämorrhagischen Schock	53
5.3	Einfluß auf die posthämorrhagische Gewebeschädigung	56

5.3.1	Lunge.....	57
5.3.2	Herz.....	61
5.3.3	Leber	67
5.3.4	Niere.....	69
5.3.5	Darm.....	72
5.4	Schlußfolgerungen aus der Arbeit	73
6	Ausblick.....	75
7	Literaturverzeichnis.....	76
8	Abbildungsverzeichnis.....	89
9	Tabellenverzeichnis.....	90

1 Einleitung

Das Polytrauma mit hohem Blutverlust ist bis heute ein im klinischen Alltag schwer zu behandelndes Krankheitsbild. Sowohl die unmittelbaren Folgen eines hämorrhagischen Schocks, wie die inadäquate Blutversorgung lebenswichtiger Organe, als auch die Spätfolgen wie das Systemische Inflammatorische *Response Syndrom* (SIRS), das Multiorganversagen (MOV) und das Multiorgandysfunktionssyndrom (MODS) bedingen die immer noch hohe Sterblichkeitsrate trotz Fortschritte in der Behandlung (Angus DC et al. 2001; Graf J et al. 2010). In vorhergehenden Studienmodellen konnte gezeigt werden, dass bei einem traumatischen Ereignis mit starkem Blutverlust und relevanten hämodynamischen Veränderungen überaktivierte neutrophile Granulozyten eine wichtige Bedeutung für die Entwicklung der Spätfolgen besitzen (Baue AE et al. 1998).

Insbesondere die Aktivierung der polymorphnukleären neutrophilen Granulozyten (PMN) und die Akkumulation dieser im Gewebe werden mitverantwortlich gemacht für MODS, SIRS, Sepsis und MOV (Schuller AM et al. 2005; Qureshi SS et al. 2001; Werdan K et al. 2005). Dies ist unter anderem erkennbar an Gewebeödemen und Gewebedestruktion (Bone RC et al. 1996). Trotz der wichtigen natürlichen Rolle der neutrophilen Granulozyten, den Organismus vor eindringenden pathogenen Keimen zu schützen, kann eine überschießende Reaktion zu immunvermittelten Funktionsstörungen führen. Diese können zur Entwicklung von SIRS, MOV bzw. MODS beitragen (Fan J et al. 2007; Bone RC et al. 1996; Brown KA et al. 2006).

Ein wichtiger antipathogener Mechanismus neutrophiler Granulozyten ist die Produktion von Sauerstoffradikalen in Verbindung mit der Sekretion von Proteasen, der jedoch bei Überaktivierung endogen-schädigendes Potential besitzt (Scholz M et al. 2005; Rüter A 2004). Sauerstoffradikale und reaktive Sauerstoff-Zwischenstufen können die Funktion der Elastase triggern, indem sie den Elastaseinhibitor Alpha-1-anti-Proteinase beeinträchtigen (Zimmermann BJ et al. 1994; Grace PA et al. 1994). Dieses Zusammenspiel trägt dazu bei, die endotheliale Barrierefunktion zu unterbrechen, welches wiederum zu erhöhter endothelialer Permeabilität, weiterem Blutdruckabfall sowie erhöhter Infiltration von Leukozyten in das Gewebe führt. Die Unterdrückung überaktiver Granulozyten stellt eine therapeutische Option zur Prävention bzw. Therapie der Schockfolgereaktionen dar.

Einleitung

Bisherige Therapieformen, z.B. die isolierte mechanische Filterung von neutrophilen Granulozyten, führte nicht zu gewünschten Ergebnissen (Simon A et al. 2006).

Das von Scholz et al. getestete Leukozyten-Inhibitions-Modul (LIM) konnte während kardiopulmonalen Eingriffen die Überaktivierung der neutrophilen Granulozyten mindern (Scholz M et al. 2005). Das LIM ist ein extrakorporales System in welchem ein Polyurethanschaum mit agonistischen anti-Fas IgM-Antikörpern eingebettet ist. FAS-L gehört zur TNF Alpha Familie und sein Rezeptor ist das auf aktivierten Leukozyten exprimierte Fas (CD 95, Apo-1) (Walzcak H et al. 2000; Nagata S 2004). Der Fas-Rezeptor ist ein bekannter Oberflächenrezeptor und wichtiger Induktor der Apoptose (Sharma K et al. 2000). Die Leukozyten verlieren über die Interaktion mit anti-Fas IgM-Antikörper innerhalb von kürzester Zeit ihre inflammatorischen Eigenschaften (Sharma K et al. 2000). Basierend auf diesem Gedankengang und bisherigen Ergebnissen ist das LIM durch die Stimulation des Fas (CD 95, Apo-1) Rezeptors potentiell ein effektives Instrumentarium, um Neutrophilen vermittelte Gewebedestruktionen und inflammatorischen Ganzkörperreaktionen vorzubeugen (Abdel-Rahman U et al. 2007).

1.1 Der Schock

1.1.1 Definition

Der Schock ist ein Syndrom unterschiedlicher Ätiologie dessen Kennzeichen eine ungenügende Durchblutung lebenswichtiger Organe mit daraus resultierendem Missverhältnis von Sauerstoffangebot zu Sauerstoffbedarf ist (Hardaway RM et al. 1967; Frank H et al. 1945; Baillie HM et al. 2008). Gemeinsames Kennzeichen aller Schockformen ist die allein auftretende oder zusammenwirkende Störung einer der drei Regelgrößen der Zirkulation: Myokardfunktion, Blutvolumen und Gefäßtonusregulation (Bauer M et al. 2006). Unabhängig von der Ursache kommt es bei jedem Schock zu Störungen der Makro- und Mikrozirkulation (Bauer M et al. 2006). Störungen der Mikrozirkulation führen zu Gewebehypoxie und beeinträchtigtem Zellstoffwechsel mit Anhäufung toxischer Metabolite (Bergentz SE et al. 1969). Unbehandelt führt der Schock zu irreversiblen Organschäden durch ungenügende bis fehlende Mikrozirkulation und schließlich zum Herz-Kreislaufversagen (Dick W et al. 2001). Am Anfang des Schockgeschehens stehen

Einleitung

reversible funktionelle Organveränderungen, welche im irreversiblen Schock zum Multiorganversagen mit hoher Letalität führen (Anaya-Prado R et al. 2002).

1.1.2 Einteilung des Schocks

Das Schockgeschehen kann je nach Ursache in verschiedene Formen eingeteilt werden. Hier folgend ein Überblick der klinischen Einteilung des Schocksyndroms (Tabelle 1) mit zugehörigen auslösenden Mechanismen (Larsen R et al. 2009).

Tabelle 1: Die Klinische Einteilung des Schocksyndroms (Larsten R. et al. 2009)

<u>Hypovolämischer Schock:</u>
- Blutverlust
- Plasmaverlust
- Wasserverlust
<u>Kardiogener Schock:</u>
- Myokardinfarkt
- Herzrhythmusstörung
- Herztamponade
- Lungenembolie
<u>Septischer, toxischer Schock:</u>
- Veränderung des peripheren Gefäßwiderstandes
- Veränderung der venösen Gefäßkapazität
- periphere arteriovenöse Shunts
<u>Anaphylaktischer Schock:</u>
- Fremdeiweiße, Polysaccharide
- Medikamente, Kontrastmittel
<u>Neurogener Schock:</u>
- Spinal-, Periduralanästhesie
- neurogene Reflexe
- Hirnstamm-, Rückenmarkstrauma
<u>Endokrin-, metabolischer-, toxischer Schock:</u>
- akute Nebenniereninsuffizienz
- thyreotoxische Krise
- Coma diabeticum
- Leber- und Nierenversagen
- Arzneimittelintoxikation

1.1.3 Pathophysiologie des Schocks

Eine verminderte Organdurchblutung im hypovolämischen Schock führt zu hypoxischen Zellschäden (Silbernagel S et al. 2013). Als Folge dessen können sich im weiteren Verlauf ein SIRS, Sepsis sowie ein MODS einstellen. All diese Folgen sind wesentlich bedingt durch Aktivierung von Anteilen des unspezifischen und spezifischen Immunsystems (Fung YL et al. 2008). Insbesondere eine starke Reaktion des unspezifischen Immunsystems mit einer Aktivierung von z.B. neutrophilen Granulozyten, Makrophagen und Monozyten sowie die Ausschüttung von Entzündungsmediatoren können zu einem SIRS, MODS oder MOV beitragen (Fung YL et al. 2008). Zytokine zählen hierbei zu den wichtigsten Entzündungsmediatoren (Werdan K et al. 2005). Zytokine sind extra- und intrazelluläre *Messenger*-Polypeptide, denen bei der Regulation der Immunreaktion bei Infektionen, Traumen, Neoplasien sowie Autoimmunerkrankungen eine wichtige Rolle zugeschrieben wird. Man kann sie in anti- und proinflammatorische Untergruppen einteilen. Antiinflammatorische Zytokine hemmen die Produktion proinflammatorischer Zytokine, beziehungsweise verhindern deren Bindung an Zelloberflächen (Aird WC et al. 2003). Zu den antiinflammatorischen Zytokinen zählt man im Allgemeinen Interleukin-10 (IL-10), *Transforming growth factor* (TGF)-Beta, sowie IL-1-Rezeptorantagonisten (Tamion F et al. 2001). Makrophagen, Monozyten, Lymphozyten, neutrophile Granulozyten und das Gefäßendothel bilden unter anderem proinflammatorische Zytokine wie IL-1, IL-8, IL-6 und Tumorekrosefaktor (TNF)alpha, Sauerstoffradikale und Lipidmediatoren wie Prostaglandine, Thromboxan und plättchenaktivierender Faktor (PAF) (Tamion F et al. 2001). Neutrophile Granulozyten werden im Rahmen einer inflammatorischen Gewebereaktion rekrutiert (Freitas M et al. 2009). Durch im Schock ausgeschüttete Zytokine und Chemokine werden die neutrophilen Granulozyten aktiviert, gefolgt von einer Adhäsion an die Gefäßwand schockabhängiger Organe und folglich Transmigration in das hypoxische Gewebe (Freitas M et al. 2009). Reaktive Sauerstoffmetabolite werden in Makrophagen und neutrophilen Granulozyten produziert (*oxydative burst*) (Freitas M et al. 2009). Diese Sauerstoffmetabolite führen zu erhöhter Membranpermeabilität der Endothelzellen und erhöhter Gefäßpermeabilität. Zur Folge hat dies ein *capillary leak*-Syndrom mit Oxygenierungsstörung (Melley DD et al. 2005). IL-1 und TNFalpha führen zusätzlich

zu einer Vasodilatation, einer gesteigerten Gefäßpermeabilität sowie zur Produktion von IL-6 und IL-8 (Baue AE et al. 1998). Diese pathogene Kaskade verschlimmert das Bild des Schocks und stellt daher möglicherweise einen wichtigen Ansatzpunkt der Therapie dar (Baue AE et al. 1998).

1.1.4 Der hypovolämisch-hämorrhagische Schock

1.1.4.1 Definition

Der hypovolämische Schock, auch Volumenmangelschock, ist ein Zustand inadäquater Perfusion vitaler Organe mit konsekutiv ungenügender Versorgung mit Sauerstoff durch einen Verlust des Intravasalvolumens (Adams HA et al. 2001).

1.1.4.2 Pathogenese

Dem Volumenmangel-Schock liegt ein starker Flüssigkeitsverlust zugrunde wodurch das zirkulierende intravasale Volumen abnimmt. Diese Abnahme hat zur Folge, dass die kardiale Vorlast abnimmt und das Herz aufgrund des unzureichenden enddiastolischen Volumenangebotes nicht in der Lage ist, eine adäquate Versorgung der Peripherie aufrecht zu halten. Die inadäquate Perfusion zieht konsekutiv eine Hypoxie der Organe nach sich (Van Aken H et al. 2001).

Beispiele hierfür sind Dehydratation durch forcierte Diurese, Diarrhoe, Erbrechen, Verbrennung sowie Hämorrhagie. Liegt dem Volumenmangel ein größerer Blutverlust zugrunde, so spricht man von einem hämorrhagischen Schock. Hier gehen, im Unterschied zu den anderen hypovolämischen Ursachen, zusätzlich zelluläre Blutbestandteile und somit auch Sauerstoffträger verloren (Werdan K et al. 2005).

Ursächlich für einen hämorrhagischen Schock können z.B. sein: Trauma, Frakturen, hier insbesondere Beckenringfrakturen, stumpfe Bauchtraumata mit Verletzung parenchymatöser Organe, Verletzung größerer Gefäße, postpartale nicht stillbare Blutungen und gastrointestinale Blutungen (Böcker W et al. 2008).

1.1.4.3 Ätiologie und Pathophysiologie

Das zirkulierende Blutvolumen eines Menschen macht ca. 7 % des gesamten Körpergewichtes aus (Kasuya H et al. 2003). Kommt es, wie im hämorrhagischen Schock, zu einer Verminderung des Blutvolumens und somit zum Abfall des

Einleitung

Blutdruckes, versucht der Körper durch Kompensationsmechanismen entgegenzusteuern (Rüter A et al. 2004).

Den Schock und seine Stadien kann man in ein reversibles sowie in ein irreversibles Schockstadium einteilen (Morini S et al. 2000).

1.1.4.4 Reversibles Schockstadium

Durch den Volumenmangel und den folglich verminderten Rückstrom des Blutes zum Herzen werden Barorezeptoren im Glomus caroticum an den Carotiden sowie Mechanorezeptoren im rechten Ventrikel stimuliert (Böker W et al. 2008). Hierdurch kommt eine sympathiko-adrenale Reaktion in Gang. Noradrenalin wird aus sympathischen Ganglienzellen des Glomus caroticum und der Nebenniere, Adrenalin aus der Nebenniere sezerniert. In Kombination mit weiteren Stresshormonen wie dem Adrenocorticotropen Hormon (ACTH) und dem Antidiuretischen Hormon (ADH) versucht der Körper dem Volumenverlust entgegen zu steuern (Böker W et al. 2008).

Zu den ersten Kompensationsmechanismen gehört eine über Alpha-Rezeptoren vermittelte Vasokonstriktion der afferenten Arteriolen und Venolen, die vornehmlich in Gebieten der Haut, dem Splanchnikusgebiet und der Nieren stattfindet (Böker W et al. 2008). Dadurch verlagert sich der Blutkreislauf aus den oben genannten Organen in den Kreislauf von Gehirn und Herz und sichert somit das Überleben dieser wichtigen Systeme. Diesen Prozess nennt man Zentralisation (Böker W et al. 2008).

Da die Niere im Rahmen dessen minderdurchblutet ist, wird das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System angeregt (Gutierrez G et al. 2004). Dies führt einerseits dazu, dass über Angiotensin II die adrenerg vermittelte Vasokonstriktion verstärkt wird und andererseits über Sekretion von Aldosteron eine vermehrte tubuläre Rückresorption von Natrium und Wasser stattfindet (Gutierrez G et al. 2004). Um das intravasale Volumen weiter zu erhöhen strömt zusätzlich interstitielle Flüssigkeit in das Gefäßsystem ein. Durch eine Aktivierung des sympathischen Nervensystems werden ferner Herzfrequenz und Kontraktilität gesteigert (Gutierrez G et al. 2004). Diese Kompensationskaskade kann einen Blutverlust von ca. 15 – 20 % des Gesamtvolumens für eine gewisse Zeit ausgleichen (Hamp et al. 2009).

1.1.4.5 Irreversibles Schockstadium

Diese genannten Kompensationsmechanismen, welche anfangs durchaus sinnvoll sind, können jedoch bei längerem Bestehen durch Zentralisation und Zytokin-Ausschüttung zu sekundären Schäden an den Organen führen. Am Anfang des irreversiblen Schockgeschehens stehen zirkulierende, proinflammatorische Zytokine die eine erhöhte Gefäßpermeabilität und somit einen weiteren Verlust des intravasalen Volumens ins Interstitium (Interstitielles Ödem) bewirken (Böcker W et al. 2008).

Die anfangs konstringierten Widerstandsgefäße reagieren im weiteren Verlauf nicht mehr auf eine erhöhte Katecholaminausschüttung. Die Arteriolen weiten sich, auch bedingt durch die Anhäufung saurer Metabolite im Schockgeschehen. Die Volumenverluste aus dem Gefäßbett führen letztendlich zur Hämokonzentration die eine Aggregation von Erythrozyten und Thrombozyten nach sich zieht (Riede UN et al. 2009). Besonders kleine Gefäßabzweigungen werden dadurch verlegt. Das Nachstromgebiet wird nicht mehr versorgt, was eine Gewebeminderversorgung mit Hypoxie, Ischämie und letztlich Nekrose des jeweiligen Gebietes nach sich zieht (Riede UN et al. 2009).

Weitere metabolische Störungen die sich aus der Gewebhypoxie ergeben sind Azidose, ungenügende Adenosintri-phosphat (ATP)-Produktion und ein Versagen ATP-abhängiger, membrangebundener Transportsysteme (Bergentz SE et al. 1969; Mutschler W et al. 2004; Böcker W et al. 1997). Die Gewebhypoxie bewirkt zunächst eine Umstellung auf anaerobe Glykolyse. Das Glykolyse Produkt Pyruvat wird dabei durch die Laktat-Dehydrogenase zu Laktat umgewandelt und steht somit nicht dem O₂-abhängigen Zitronensäurezyklus zur Verfügung. Auf diese Weise können jedoch nur zwei mol ATP pro mol Glukose gewonnen werden und nicht wie bei der O₂-abhängigen Phosphorylierung 36 mol ATP pro mol Glukose (Bergentz SE et al. 1969; Mutschler W et al. 2004, Böcker W et al. 1997). Die somit wegen ungenügender ATP-Produktion ausgefallenen Transportsysteme führen zum Einstrom von Natrium und Wasser und somit zu einer Schwellung der betroffenen Zellen (hydropische Schwellung)(Bergentz SE et al. 1969; Mutschler W et al. 2004; Böcker W et al. 1997). Durch die Endothelschädigung wird eine Entzündungsreaktion mit daraus resultierender Emigration von Leukozyten

Einleitung

induziert, welches wiederum die Gewebeschäden noch weiter verstärkt (Bergentz SE et al. 1969; Mutschler W et al. 2004; Böcker W et al. 1997).

1.1.4.6 Klinische Stadieneinteilung

Da der Schock einer klinischen Diagnosestellung bedarf hat sich im Praxisalltag der Schockindex nach Allgöwer zur Abschätzung des Schweregrades durchgesetzt (Ziegenfuß et al. 2007). Dieser ist definiert als Quotient aus Herzfrequenz und systolischem Blutdruck: Schockindex = Herzfrequenz pro Minute/ Systolischen Blutdruck (RR systolisch) (in mmHg). Ergibt dieser Quotient einen Wert über eins so ist dies ein Hinweis auf einen relevanten Volumenmangel. In Tabelle 2 wird die Einteilung des Schockes in 4-gradiger Abstufung modifiziert nach dem *American College of Surgeons* aufgeführt.

Tabelle 2: Einteilung des Schock (*American College of Surgeons Committee on Trauma 2004*)

	Grad 1	Grad 2	Grad 3	Grad 4
Herzfrequenz Schläge/min	< 100	> 100	> 120	> 140
Blutdruck	Normal	Normal	Niedrig	Sehr niedrig
Puls	Kräftig	Schwach	Schwach	Fadenförmig
Atemfrequenz/min	14 – 20	20 – 30	30 – 40	> 35
Kapillare Reperfusion	Normal	Verlängert	Verlängert	Verlängert
Bewusstsein	Normal	Ängstlich	Ängstlich, verwirrt	Verwirrt, lethargisch
Blutverlust ml	< 750	750 – 1500	1500 – 2000	> 2000
Urinausscheidung ml/Std	> 30	20-30	5 – 15	Anurie

Da der Schockindex keinerlei Rückschlüsse über das Ausmaß des Blutverlustes und die Schwere des Schockes erlaubt, sondern lediglich eine grobe Abschätzung dessen zulässt, bedient man sich im klinischen Alltag der Einteilung nach dem *American College of Surgeons* (Ziegenfuß et al. 2007).

1.1.4.7 Klinische Diagnostik und Überwachung

Da der hämorrhagische Schock primär mit Volumenverlust einhergeht ist es wichtig, die hämodynamischen Parameter engmaschig zu kontrollieren. Bestandteile des Monitorings sollten sein:

- Herzfrequenz
- Systolischer und diastolischer Blutdruck
- Atemfrequenz
- Urinausscheidung
- Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP)
- Zentraler Venendruck
- Parameter des Säure-Basen Haushaltes: pH-Wert, Sauerstoffpartialdruck (pO_2)

Der mittlere arterielle Druck (MAP) hängt direkt vom Herzzeitvolumen (HZV) und dem systemischen peripheren Gefäßwiderstand (SVR) ab. Der MAP errechnet sich folgendermaßen: $MAP = HZV \times SVR$.

Hieran ist zu erkennen, dass ein vermindertes Herzzeitvolumen anfänglich noch durch die Erhöhung des peripheren Widerstandes kompensiert werden kann, ohne dass der MAP fällt (Berchtold R et al. 2008). Der zentrale Venendruck ist ein unzureichender Parameter zur Beurteilung der Schockschwere da er von unterschiedlichen Faktoren abhängt (Marik PE et al. 2008). Zusätzliches invasives Monitoring kann mithilfe des Pulmonal-Arteriellen-Katheters (PAK, Swan-Ganz-Katheter) erreicht werden. Dieser Pulmonalkatheter wird bis in die Aufzweigung der Arteria pulmonalis eingebracht und misst dort die Herzleistung, den Sauerstofftransport, den Pulmonalkapillaren Verschlussdruck (PCWP) und den vaskulären Widerstand. Eine nähere Beschreibung dieses Katheters folgt im Kapitel Material und Methoden.

1.1.4.8 Aktuelle Therapieansätze des hypovolämisch hämorrhagischen Schocks

Nach heutigen Erkenntnissen stützt sich die Therapie des hypovolämischen-hämorrhagischen-Schocks auf mehrere Säulen (Marzi I et al. 1996):

- a) Volumenersatz
- b) Vermeidung einer Hypoxämie
- c) Azidose-therapie
- d) Evtl. medikamentöse Unterstützung mit Vasopressoren

Unabhängig von der Ursache des Geschehens sollten mindestens zwei großlumige intravenöse Verweilkanülen gelegt werden um eine schnelle und effektive Volumensubstitutionstherapie und medikamentöse Therapie schon am Unfallort einleiten zu können (Secchi A et al. 2009). Durch die Volumenzufuhr sollte ein systolischer Blutdruck von > 100 mmHg, ein arterieller Mitteldruck von > 80 mmHg und/ oder ein zentral venöser Druck (ZVD) von > 8 mmHg erzielt werden (Secchi A et al. 2009). Um den pulmonalen Gasaustausch zu unterstützen sollte der Patient Sauerstoff über eine Nasensonde zugeführt bekommen beziehungsweise ab einem *Glasgow-Coma-Scale* (GCS) von unter 9 Punkten intubiert werden. Die metabolische Azidose, die sich im Schock durch die Gewebehypoxie und die anaerobe Glykolyse einstellt, kann durch die Volumenersatztherapie behoben, des Weiteren durch Gabe von Natriumbikarbonat therapiert werden (Berchtold R et al. 2008). Vasopressoren sind nur bei drohendem Herzstillstand oder bei nicht beherrschbarer Hypotension einzusetzen (Berchtold R et al. 2008).

1.1.4.9 Ischämie und Reperfusionsschaden

Da im Schock durch den anhaltenden Sauerstoffmangel nicht genügend Energie durch die aerobe Glykolyse bereitgestellt werden kann, gewinnt der Organismus durch den Abbau von Adenosintriphosphat (ATP) über die Zwischenstufe des Adenosindiphosphates (ADP) zu Adenosinmonophosphates (AMP) Energie (Suematsu M et al.1995; Mutschler W et al. 2004). AMP wird im nächsten Schritt durch die Adenylatdesaminase zu Inosinmonophosphat (IMP) und über Inosin zu Hypoxanthin abgebaut. Durch Reperfusion des ischämischen Gebietes wird in

Einleitung

Anwesenheit von Sauerstoff Hypoxanthin zu Xanthin umgewandelt. Aus Xanthin entsteht das Endprodukt Harnsäure. Bei diesem Vorgang dient Sauerstoff als Elektronenakzeptor, wobei Superoxidanionen entstehen (Suematsu M et al.1995; Mutschler W et al. 2004). Diese Sauerstoffradikale führen direkt zur Lipidperoxidation mit folgender Membranschädigung, endothelialer Permeabilitätsstörung (*Capillary leakage*), sowie zu DNA-Schäden mit Apoptose von Endothel- und Parenchymzellen (Suematsu M et al.1995; Mutschler W et al. 2004).

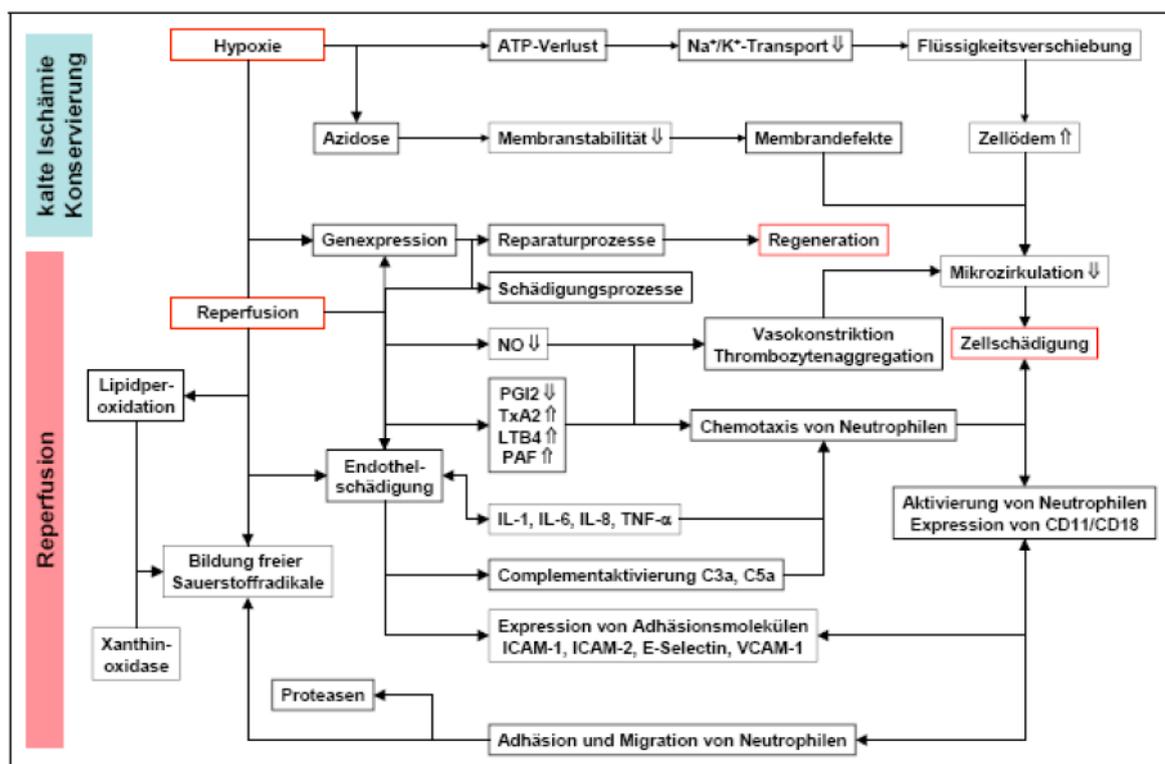


Abb. 1: Ischämie-Reperfusionsschaden bei Dünndarmtransplantation (Braun F et al. 2005)

Normalerweise führt Stickstoffmonoxid am Gefäßsystem zu einer Vasodilatation (Groot H et al. 1994; Galli F et al. 2005). Reagiert es mit Sauerstoffradikalen wie in der Reperusionsphase nach Ischämie, so kommt es zum konträren Effekt mit Vasokonstriktion (Groot H et al. 1994; Galli F et al. 2005). Gleichzeitig bewirken die freien Radikale die Expression von L- und P-Selektin sowie endothelialen Adhäsionsrezeptoren (Groot H et al. 1994; Galli F et al. 2005). Adhäsion und Transmigration aktivierter Granulozyten in das Gewebe wird dadurch gefördert und die Schädigung von Membran und Gewebe vorangetrieben (Rose S et al. 1994;

Kaminski KA et al. 2002). Des Weiteren führt die Oxidantienbildung zur Komplement- und Leukozytenaktivierung, was eine inflammatorische Antwort auf die Reperfusion nach Ischämie erklärt (Granger DN 1988). Abbildung 1 zeigt schematisch den Ischämie- und Reperfusionsschaden, hier exemplarisch aufgeführt am Beispiel der Dünndarmtransplantation.

1.2 Sepsis, SIRS, MODS

1.2.1 Definition

In den letzten Jahren gab es diverse Beschreibungen für SIRS, Sepsis und MODS. Um die systemische Reaktion des Organismus nach einem Trauma zu beschreiben und ihre Folgen einordnen zu können, wurde von der Arbeitsgruppe des *American College of Chest Physicians (ACCP)* beziehungsweise der *Society of Critical Care Medicine (SCC)* eine einheitliche Definition und Einteilung vorgeschlagen (*American College of Surgeons Committee on Trauma*, 2004).

1.2.1.1 Sepsis, SIRS

Zur klinischen Diagnostik einer Sepsis oder eines SIRS werden die Diagnosekriterien der *American College of Chest Physician* und der *Society of Critical Care Medicine (ACCP/SCCM)* Konsensus-Konferenz hinzugezogen (*American College of Surgeons Committee on Trauma*, 2004). Hierzu gehören:

- Körpertemperatur > 38°C oder < 36°C
- Herzfrequenz > 90 Schläge/Minute
- Atemfrequenz > 20 / Minute oder peripher arterielle Sauerstoffsättigung < 32 mmHg
- Leukozytenzahl > 12.000 Zellen/ μ L oder < 4000 Zellen/ μ L

Zur Diagnosestellung eines SIRS müssen zwei der vier Kriterien erfüllt sein.

Eine Sepsis liegt vor, wenn 2 SIRS Kriterien in Kombination mit dem klinischen oder dem mikrobiologischen Nachweis einer Infektion zusammenkommen. Die schwere Sepsis ist definiert als Sepsis, verbunden mit Organdysfunktion, Hypoperfusion, und/oder Hypotonie. Sepsis induzierte Hypotension liegt vor, wenn der systolische Blutdruck unter 90mmHg oder um 40mmHg unterhalb des Ausgangswerts liegt. Der septische Schock ist charakterisiert durch Sepsis bedingte Hypotension, welche trotz adäquater Flüssigkeitssubstitution persistiert und einhergeht mit den oben

Einleitung

genannten hypoperfusions bedingten Abnormalitäten oder Organdysfunktionen. Folgen der Hypoperfusion sind unter anderem Laktatazidose, Oligurie, veränderter Bewusstseinszustand (Reinhart K et al. 2010; Engelman L et al. 2006).

Auslöser für eine SIRS sind vielfältig. Gängige Ursachen für eine SIRS sind Pankreatitis, Ischämie, Trauma, und hämorrhagischer Schock (Deitch EA 1992). Eine häufige Komplikation des SIRS ist die Entwicklung einer Dysfunktion mehrerer Organsysteme, wie akutes Lungenversagen, Schock, akutes Nierenversagen, sowie das Multiorgan-Dysfunktionssyndrom (MODS).

Entsprechend der ACCP/SCCM Konsensus-Konferenz sind Sepsis, schwere Sepsis, septischer Schock und SIRS nach den in Tabelle 3 aufgeführten Diagnosekriterien definiert (American College of Surgeons Committee, 2004):

Tabelle 3: Diagnosekriterien für Sepsis, schwere Sepsis und septischer Schock (ACCP/SCCM Konsensus-Konferenz Kriterien)

I Nachweis der Infektion
Diagnose einer Infektion über den mikrobiologischen Nachweis oder durch klinische Kriterien
II Systemisches Inflammations Response Syndrom (SIRS) (mind. 2 Kriterien)
Fieber ($\geq 38^{\circ}\text{C}$) oder Hypothermie ($\leq 36^{\circ}\text{C}$) bestätigt durch eine rektale, intravasale oder -vesikale Messung
Tachykardie: Herzfrequenz ≥ 90 /min
Tachypnoe (Frequenz ≥ 20 /min) o. Hyperventilation ($\text{PaCO}_2 \leq 4.3$ kPa/ ≤ 33 mmHg)
Leukozytose ($\geq 12000/\text{mm}^3$) oder Leukopenie ($\leq 4000/\text{mm}^3$) oder ≥ 10 % unreife Neutrophile im Differentialblutbild
III Akute Organdysfunktion (mind. 1 Kriterium)
Akute Enzephalopathie: eingeschränkte Vigilanz, Desorientiertheit, Unruhe, Delirium
Relative oder absolute Thrombozytopenie: Abfall der Thrombozyten um mehr als 30 % innerhalb von 24 Stunden oder Thrombozytenzahl $\leq 100.000/\text{mm}^3$. Eine Thrombozytopenie durch akute Blutung oder immunologische Ursachen muss ausgeschlossen sein.
Arterielle Hypoxämie: $\text{PaO}_2 \leq 10$ kPa (≤ 75 mmHg) unter Raumluft oder ein $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ -Verhältnis von ≤ 33 kPa (≤ 250 mmHg) unter Sauerstoffapplikation. Eine manifeste Herz- oder Lungenerkrankung muss als Ursache der Hypoxämie ausgeschlossen sein.
Renale Dysfunktion: Eine Diurese von ≤ 0.5 ml/kg/h für wenigstens 2 Stunden trotz ausreichender Volumensubstitution und/oder ein Anstieg des Serumkreatinins > 2 -fache oberhalb des lokal üblichen Referenzbereiches.
Metabolische Azidose: Base Excess ≤ -5 mmol/l oder eine Laktatkonzentration $> 1,5$ fache oberhalb des lokal üblichen Referenzbereiches
Sepsis: Kriterien I und II,
Schwere Sepsis: Kriterien I, II und III
Septischer Schock: Kriterien I und II sowie für wenigstens 1 Stunde ein systolischer arterieller Blutdruck ≤ 90 mmHg bzw. ein mittlerer arterieller Blutdruck ≤ 65 mmHg oder notwendiger Vasopressoreinsatz, um den systolischen arteriellen Blutdruck ≥ 90 mmHg oder den arteriellen Mitteldruck ≥ 65 mmHg zu halten. Die Hypotonie besteht trotz adäquater Volumengabe und ist nicht durch andere Ursachen zu erklären.

1.2.1.2 MODS

Das MODS beschreibt einen Zustand, in dem ein Organ nicht mehr dazu in der Lage ist, seine Funktion suffizient aufrechtzuerhalten (Werdan K et al. 2005). Das MODS kann sowohl primär als auch sekundär in Erscheinung treten. Das primäre MODS ist das direkte Ergebnis eines Ereignisses nach welchem die Organdysfunktion schon früh in Erscheinung tritt und direkt mit dem Ereignis in Zusammenhang gebracht werden kann (Werdan K et al. 2005).

Beim primären MODS ist die Beteiligung einer abnormalen und exzessiven inflammatorischen Reaktion nicht zwingend notwendig, da die Organdysfunktion direkt durch das Trauma erklärt werden kann. Das sekundäre MODS entwickelt sich nicht als direkte Antwort auf ein Ereignis, sondern ist die Folge einer inflammatorischen Reaktion z.B. auf ein Trauma im Zuge einer SIRS (Bone R C et al. 1992). In Abbildung 2 ist schematisch erläutert wie sich das primäre MODS und das sekundäre MODS voneinander unterscheiden beziehungsweise sich bedingen.

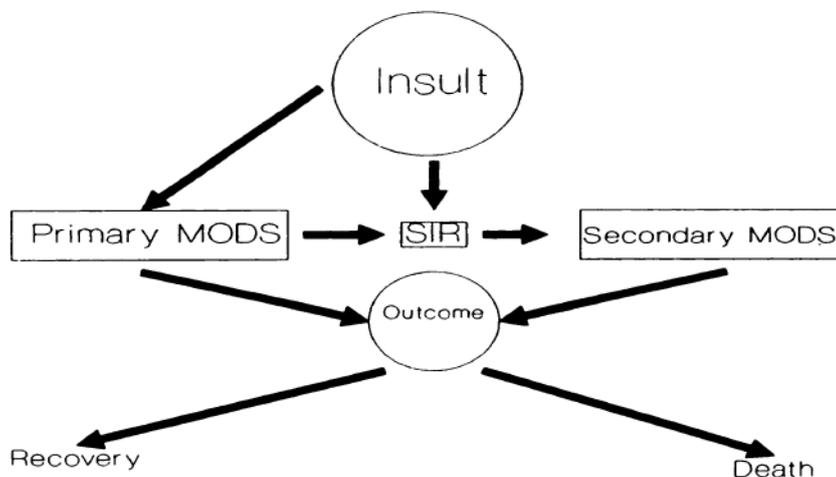


Abb. 2: Das primäre und sekundäre MODS (Bone R et al. 1992)

1.2.2 Epidemiologie

Die Sepsis ist trotz intensivmedizinischer Betreuung und fortgeschrittener Behandlungsmethoden immer noch eine der Haupttodesursachen auf Intensivstationen (Engel C et al. 2006). Bislang erhobene Daten für die USA ergaben, dass jährlich 215.000 Patienten an einer Sepsis und ihren Folgen

versterben und diese somit mit einer Mortalitätsrate von 28,6 % einhergeht (Angus DC et al. 2001).

Nach einer Beobachtungsstudie des Kompetenznetzes Sepsis (SepNet) wird die jährliche Neuerkrankungsrate für Sepsis in Deutschland zwischen 85 und 110 Fälle und für die schwere Sepsis zwischen 76 und 110 Fälle pro 100.000 Einwohner pro Jahr geschätzt (Brunkhorst F et al. 2011). Die Sepsis-Sterberate beläuft sich nach Berechnungen der Deutschen Sepsis Gesellschaft auf 60.000 pro Jahr. Somit gehört laut Statistik die Sepsis zur dritthäufigsten Todesursache in Deutschland. Weitere Probleme, abgesehen von der erhöhten Sterblichkeitsrate, verursachen erhöhte Kosten durch verlängerte Liegedauer auf Intensivstationen. Die entstandenen Kosten durch Sepsis auf deutschen Intensivstationen werden auf 1,77 Milliarden Euro pro Jahr geschätzt (Engel C et al. 2006; Brunkhorst F et al. 2011).

1.2.3 Diagnose

Die Krankheitsformen Sepsis, schwere Sepsis und septischer Schock stehen in einem engen Zusammenhang und können nicht mittels nur einem Parameter diagnostiziert bzw. von einander unterscheiden werden (Reinhart K et al. 2010). Eine nachgewiesene Infektionsquelle, wesentliches Kriterium für die Diagnose Sepsis, findet sich in Abhängigkeit von der antibiotischen Vorbehandlung bei ca. 30 % der Patienten (Martin GS et al. 2003).

Relevante Serummarker für die Diagnose einer Sepsis im klinischen Alltag sind nach heutigem Anwendungsstand das C-reaktive Protein (CRP), IL-6 und Procalcitonin (Brunkhorst F et al. 2011). Procalcitonin wird von den C-Zellen der Schilddrüse gebildet und nach endopeptidatischer Spaltung als Calcitonin in die Blutbahn sezerniert (Simon L et al. 2004). Der Serumwert liegt unter Normalbedingungen unter 0,1 ng/ml. Procalcitonin-Serumwerte unter 0,5 ng/ml lassen darauf schließen, dass eine schwere Sepsis eher unwahrscheinlich ist. Steigt die Serumkonzentration allerdings auf über 2,0 ng/ml an, so ist eine Sepsis sehr wahrscheinlich (Christ-Crain M et al. 2006). Hierbei muss allerdings bedacht werden, dass auch schwere Traumata oder Operationen ebenfalls zu einer vorübergehenden Erhöhung dieses Wertes führen können, ohne dass eine Sepsis vorliegt. Procalcitonin dient auch dem Therapiemonitoring. Sein Wert korreliert mit der Schwere der Sepsis und dem Erfolg der Therapie (Aouifi A et al. 1999).

Einleitung

Zur Einschätzung der Schwere des septischen und intensivmedizinisch betreuten Patienten kann man verschiedene Scoringssysteme anwenden. Am weitesten verbreitet sind APACHE III (*Acute Physiology And Chronic Health*), SAPS II (*Simplified Acute Physiology Score*), und TISS (*Therapeutic Intervention Scoring System*). In Abhängigkeit des Scores werden die jeweilig erhobenen Parameter gewichtet und ein Gesamtscore errechnet, der mit Schweregrad oder Prognose korreliert.

1.2.4 Therapie

Die Suche nach und Beseitigung der Infektionsquelle sollte im Falle einer Sepsis bei Therapiebeginn erstes Anliegen sein. Dazu gehören die Entfernung oder der Wechsel jeglicher Katheter- und Drainage-Systeme, Fremdkörper und wenn nötig eine chirurgische Herdsanierung bei lokalisierter Infektion. Der schnelle Beginn einer antibiotischen Therapie sollte direkt nach der ersten Blutkulturabnahme eingeleitet werden. Dazu sollte ein Schema erstellt werden, welches alle in Frage kommenden Keime abdeckt. Nach Erhalt des Antibiogramms kann eine Modifikation der antibiotischen Therapie erfolgen (Rivers E et al. 2001).

Neben der Fokussanierung und einer kalkulierten Antibiose sollten auch kreislaufunterstützende Maßnahmen ergriffen werden, um die weiteren Folgen der Sepsis behandeln zu können. Eine hämodynamische Stabilisierung sollte erfolgen um ein optimales zelluläres Sauerstoffangebot wiederherzustellen (Rivers E et al. 2001). Um dieses Ziel zu erreichen sollte eine kontrollierte Volumensubstitution durchgeführt werden. Hierzu können kolloidale Substanzen oder kristalline Lösungen eingesetzt werden (Reinhart K et al. 2010). Sollte trotz ausreichender Volumensubstitution das Herzzeitvolumen weiterhin eingeschränkt sein, kann man als weitere Therapiemaßnahme Dobutamin als Katecholamin der Wahl verabreichen (Meier-Hellmann A et al. 2000). Bei nicht ausreichender Wirkung kann ein vasopressorisches Katecholamin (Noradrenalin) verabreicht werden (Martin C et al. 2000). Eine gründliche Überwachung der Sauerstoffsättigung sowie das Monitoring der Atmung sind ebenfalls wichtige Maßnahmen, wobei versucht werden sollte, die oxymetrische Sauerstoffsättigung auf über 90 % zu halten (Amato MB et al. 1998). Die Indikation zur Intubation sollte großzügig gestellt werden, um einer weiteren Verschlechterung des Allgemeinzustandes des Patienten vorzubeugen. Hydrokortison kann in niedriger Dosierung innerhalb von 24 Stunden Patienten im

septischen Schock verabreicht werden, die trotz ausreichender Volumengabe Vasopressoren benötigen. Diese Therapie dürfte jedoch wegen der Nebenwirkungen nicht länger als 24 Stunden andauern (Annane D et al. 2002). In Einzelfällen wird die Gabe von rekombinantem aktiviertem Protein C zusätzlich zur Standardtherapie bei Patienten mit mindestens 2 Organversagen und schwerer Sepsis unter Berücksichtigung der Kontraindikationen empfohlen (Deans KJ et al. 2000). Eine Thromboseprophylaxe mit unfraktioniertem oder niedermolekularem Heparin wird empfohlen (Reinhart K et al. 2010). Aufgrund des veränderten Stoffwechsels muß über eine intensivierete Insulintherapie nachgedacht werden (Reinhart K et al. 2010). Durch das wahrscheinlich erhöhte Risiko eines Stressulkus wird eine Stressulkusprophylaxe angeraten (Borrero E et al. 1985; Bresalier RS et al. 1987; Cook D et al. 1998; Stothert JC et al. 1980).

1.2.5 Sepsis, SIRS, MODS, MOV im Rahmen dieser Arbeit

Obwohl die Pathophysiologie des Multiorganversagens im Detail noch nicht ausreichend bekannt ist, weiß man, dass aktivierte polymorphkernige neutrophile Granulozyten (PMN) eine bedeutende Rolle in der Entstehung des MODS spielen (Ertel W et al. 1994; Drumel W, 1992; Goris et al. 1985; Hiesmayr et al. 1992; Kier et al. 1992; Lawin P et al. 1982). Proinflammatorische Mediatoren und Toxine führen zu verstärkter Expression von Adhäsionsmolekülen und führen somit zu einer Leukozyten-Endothel-Interaktion (Bone Rc et al. 1996; Brown KA et al. 2006; Hoesel LM et al. 2005; Wesche DE et al. 2005). Unter physiologischen Bedingungen binden die im Blutstrom transportierten PMN vorübergehend am Gefäßendothel, lösen sich aber nach kurzer Zeit wieder, um mit dem Blutstrom weitertransportiert zu werden. Diesen Prozess nennt man „rolling“ (Jonas Da et al. 1993). Für diesen ersten Adhäsionsschritt exprimieren PMN L-Selektin (LAM-1, *leukocyte adhesion molecule*) und die korrespondierenden Endothelzellen E- oder P-Selektin (ELAM-1, *endothelial/platelet leukocyte adhesion molecule*) (Jonas Da et al. 1993). In besonderen Situationen kommt es zu einer Interaktion von Rezeptoren auf Endothelzellen (ICAM-1, *intercellular adhesion molecule* und VCAM, *vascular cell adhesion molecule*) und Integrinen auf PMN (CD11/CD18) die zu einer festen Bindung von PMN an das Endothel führen. Dies ermöglicht den PMN in das umliegende Gewebe zu migrieren. Reaktive Sauerstoffmetabolite werden in Makrophagen und neutrophilen Granulozyten

Einleitung

produziert (*oxydative burst*) (Freitas M et al. 2009). Diese Sauerstoffmetabolite führen über oben beschriebene Kaskade zu erhöhter Membranpermeabilität der Endothelzellen und erhöhter Gefäßpermeabilität. Zur Folge hat dies ein *capillary leak-Syndrom* z.B. mit Oxygenierungsstörung durch Lungenödem, Ileussyptomatik durch Darmwandödem oder genereller Zellschwellung mit Ausfall der Funktion (Rondeau E et al.1987; Shinohara K, 2011). Abbildung 3 stellt schematisch den beschriebenen Vorgang des *Rollings* sowie die Phasen der Leukozytenmigration dar. Weiterführend tragen im Rahmen eines systemischen Entzündungsgeschehens oder einer überschießenden Immunantwort proinflammatorische Zytokine dazu bei, dass es zu einem verminderten PMN-Zelltod kommt (Paunel-Görgülü A et al. 2011; Carlos TM et al. 1994; Springer TA, 1995; Bevilacqua MP et al. 1994; Peltz G, 1996; Issekutz TB, 1992; Malik AB et al. 1996; Pilewski JM et al. 1995; Tedder TF et al. 1995; Wolitzky BA, 1996). Diese PMN-Apoptose Resistenz führt zu einer Akkumulation von PMN im Gewebe.

Ausgangspunkt dieser Forschungsarbeit war es, die PMN Überaktivität zu mindern bevor eine Gewebeakkumulation mit ihren beschriebenen Folgeschäden zustande kommt.

Die einzelnen Phasen der Leukozytenmigration

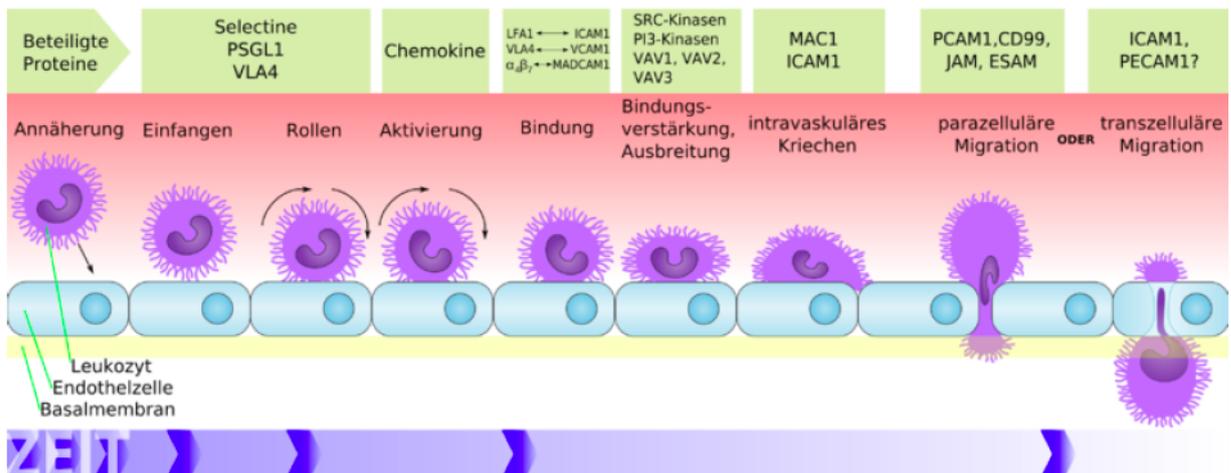


Abb. 3: Schematische Darstellung der Leukozytenmigration durch das Endothel (Von Adrian UH et al. 2000)

1.3 Das Leukozyten-Inhibitionsmodul (LIM)

1.3.1 Molekulare Mechanismen

1.3.1.1 Der Fas-Rezeptor und die Interaktion des Fas/Fas-L Systems

Der Fas-Rezeptor ist ein Apoptoserezeptor (Sharma K et al. 2000). Seine Synonyme sind vielfältig. Gängige Bezeichnungen für den Fas-Rezeptor sind CD95, Apo-1, TNFRSF6 (*Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 6*) (Peter ME et al. 2003).

Der Fas-Ligand (Fas-L) gehört zur TNF-Alpha Familie und ist der Ligand des Fas, welcher sowohl auf aktivierten Leukozyten exprimiert wird als auch auf anderen Zellen „immunpriviligierter“ Gewebe (Itoh N et al. 1997; Oehm A et al. 1992; Suda T et al. 1997). Die Interaktion von FAS-L mit Fas führt über eine Kette verschiedener Apoptosesignale zum Zelltod. Das Fas/FAS-L System ist sowohl ein physiologisch wichtiger Mechanismus zur Dämpfung von Gewebezell- beziehungsweise Tumorzellproliferation als auch zur Herabregulation von Immunzellreaktionen (Kischkel FC et al. 1995; Irmiler M et al. 1997).

1.3.1.2 Die Apoptose Kaskade

Die Apoptose stellt den programmierten Zelltod des Organismus dar. Die Apoptose beginnt mit einer Initiationsphase und wird in einen intrinsischen und einen extrinsischen Weg unterteilt.

Extrinsischer Weg:

Die Todesrezeptoren der TNF-Rezeptorfamilie, wie zum Beispiel der Fas-Rezeptor, besitzen in ihrem zytoplasmatischen Teil, eine sogenannte Death Domain (DD). Bindet nun ein Ligand extrazellulär an diesen Rezeptor (z.B. CD95 Ligand bindet von außen an den CD95 Rezeptor) so wird die Apoptose der Zelle eingeleitet (Sprick MR et al. 2002). Durch die Ligandenbindung wird der Rezeptor aktiviert. Dadurch können nun Adaptermoleküle mit ihrer eigenen Todesdomäne binden und interagieren. Zuerst wird das TNF-Rezeptor assoziierte Protein (*Tumor necrosis factor receptor type 1-associated death domain protein = TRADD*) mobilisiert. TRADD besitzt neben seiner eigenen DD auch eine Todes Effektordomäne *Death*

Einleitung

effector domain, DED, über die die Procaspase 8 mit ihrer DED binden kann. Die nun aktivierte Caspase 8 löst die Caspasekaskade aus (Sprick MR et al. 2002).

Intrinsischer Weg:

Die Apoptose wird hierbei nicht durch Bindung eines Liganden von außen an einen Rezeptor induziert sondern nimmt ihren Ausgang in der Zelle selber (Hengartner MO 2000). Beim intrinsischen Weg spielen Tumor-Suppressorgene wie das p53 Gen eine bedeutende Rolle (Hengartner MO 2000). p53 wird durch Schädigung der DNA aktiviert und stimuliert dann die Expression pro-apoptotischer Mitglieder der Bcl-2-Familie. Diese setzen Cytochrom C frei. Cytochrom C bindet an den Apoptotischen- Protease-Aktivierungsfaktor-1 (Apaf-1) und überführt diesen in eine andere Konformation (Hengartner MO 2000). Daraufhin kann die Caspase-Rekrutierungs- Domäne (CARD) des Apaf-1 an die CARD Domäne der Procaspase 9 binden. Diesen Komplex nennt man das Apoptosom. Die Caspase 9 aktiviert ähnlich wie die Caspase 8 beim extrinsischen Weg die kaskadenartige Caspasereaktion (Chinnaiyan AM et al. 1995; Boldin MP et al. 1996).

An die oben beschriebene Initiationsphase schließt sich die Effektorphase an (Chinnaiyan AM et al. 1995; Boldin MP et al. 1996). Hier kommen weitere Caspasen wie zum Beispiel Caspasen 3, 6 und 7 zum Tragen. Sie aktivieren einerseits sekundäre Zielproteine durch limitierte Proteolyse, andererseits bauen sie aktiv Lamin, Bestandteil der Zellkernmembran, und Actin, Teil des Zytoskeletts, ab. Folge beider Wege ist, dass sich die Zelle in kleine Vesikel abschnürt und von Phagozyten „gefressen“ wird (Chinnaiyan AM et al. 1995; Boldin MP et al. 1996). Dieser komplexe Mechanismus ist in Abbildung 4 schematisch dargestellt.

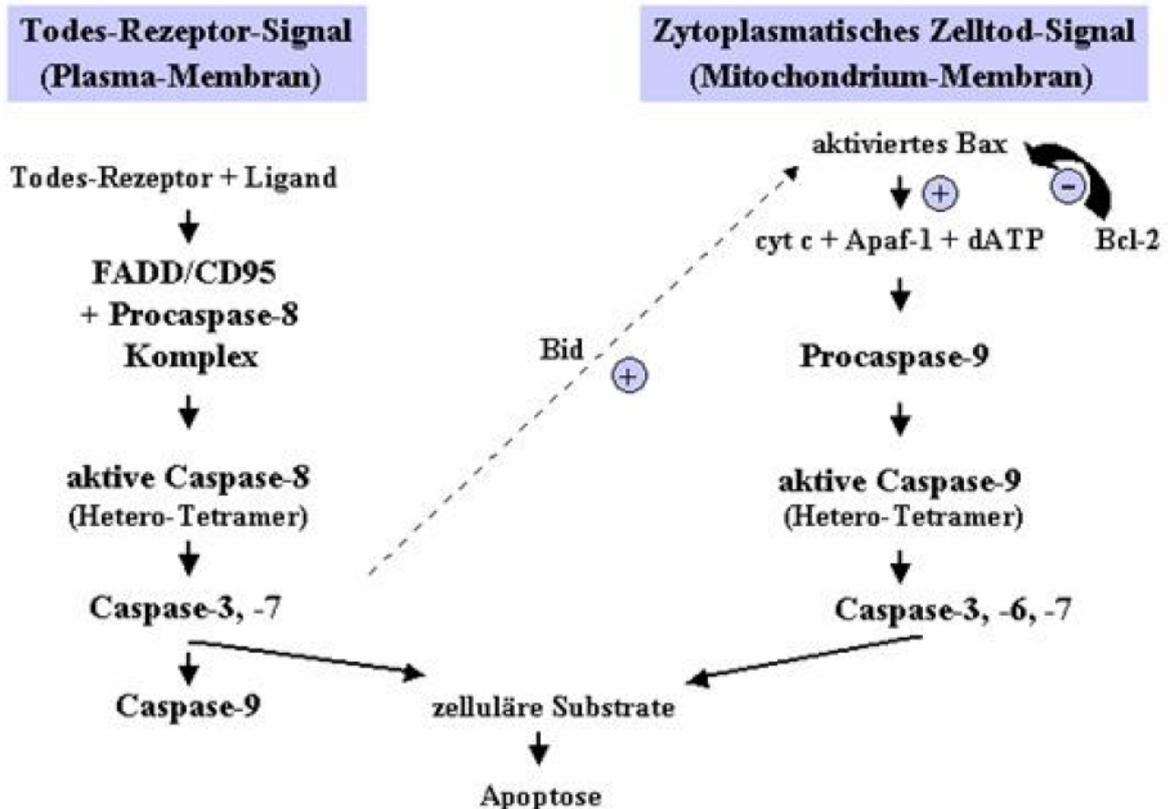


Abb. 4: Der Apoptose Signalweg (Earnshaw WC et al. 1999)

Die Dysregulation der Apoptose, besonders des Fas/FAS-L Systems, werden mitverantwortlich gemacht für die Entstehung von Autoimmunerkrankungen wie zum Beispiel dem Systemischen Lupus Erythematoses (SLE), der Hashimoto Thyreoiditis oder der Myasthenia gravis (Worth A et al. 2006; King KL et al. 1998).

1.3.2 Aufbau

Das Leukozyten-Inhibitionsmodul (LIM; LEUKOCARE, München) besteht aus einem Plastikgehäuse in welchem ein offenporiger Polyurethanschaum gebettet ist. Dieser wird mit kovalent fest gebundenen agonistischen anti-Fas (CD95/APO-1)-IgM-Antikörpern beschichtet (Scholz M et al. 2005) (Abbildung 5).

Diese Konstruktion kann in einen extrakorporalen Blutkreislauf (z.B. Herz-Lungen-Maschine, Hämofiltration, etc.) integriert werden. Es hat einen blutabführenden Schenkel und einen blutzuführenden Schenkel, wobei die Blutflußrichtung vom Körper durch das LIM mit dem beschichteten Polyurethanschaum wieder hin zum Körper geleitet wird (Abbildung 6).

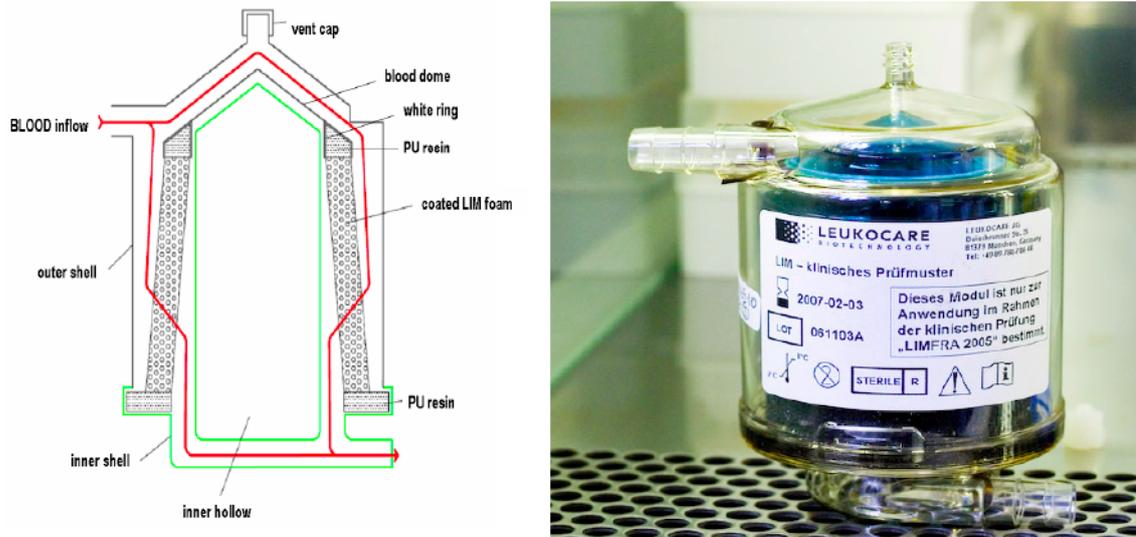


Abb. 5: Der makroskopische Aufbau des LIM Systems (LEUKOCARE Biotechnology). Links abgebildet der schematische Blutfluss durch das LIM-System, rechts abgebildet das LIM System wie es in der Herz-Thorax-Chirurgie eingesetzt wurde (Leukocare, München, mit freundlicher Genehmigung der Firma)



Abb. 6: Aufbau und Einsatz des LIM Systems in der Tierversuchsstudie (Bilder aus eigener Versuchsreihe)

1.3.3 Wirkmechanismen des LIM

Das Wirkprinzip des LIM besteht darin, dass die fest gebundenen anti-Fas-Antikörper über ihre Interaktion mit dem Fas-Liganden auf aktivierte PMN die Apoptose einleiten, ohne dass es zu einem Einschwemmen der Antikörper in den körpereigenen Blutkreislauf kommt.

Einleitung

Wird nun der Blutstrom durch das LIM geleitet so binden aktivierte PMN über Fas L an die mit Antikörpern beschichtete Oberfläche und werden inaktiviert. Diese Granulozyten verlieren ihre chemotaktischen Eigenschaften und gehen in Apoptose, werden von Makrophagen erkannt und anschließend phagozytiert. In Abbildung 7 ist die Wirkungsweise des LIM schematisch erläutert.

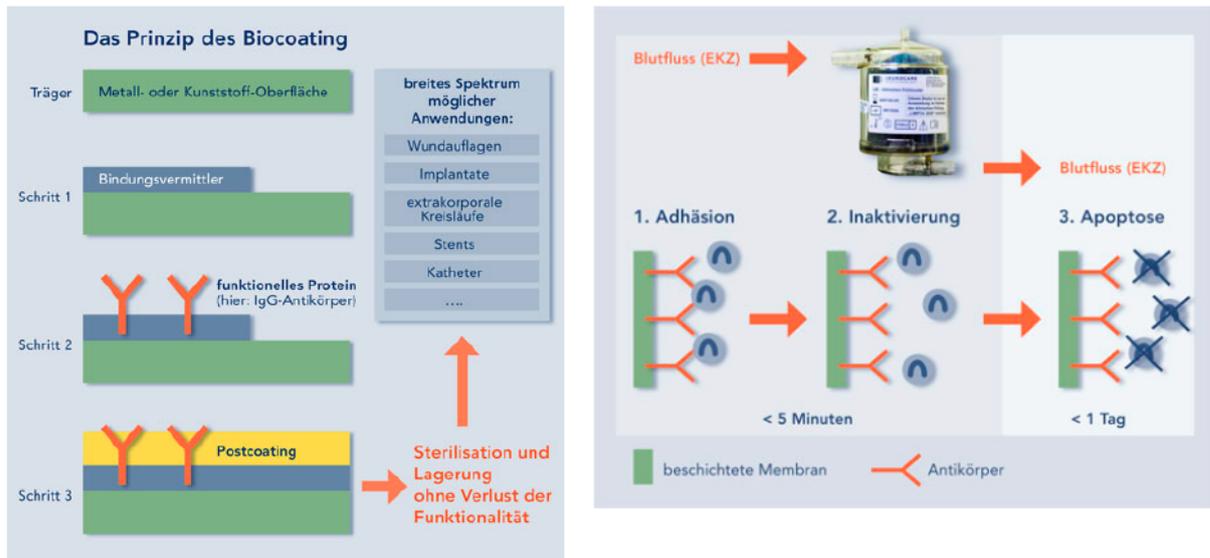


Abb. 7: Schema zur Wirkungsweise des LIM Systems, schematisch erläutert (Leukocare München, mit freundlicher Genehmigung der Firma)

1.4 Bisheriger Einsatz

Das LIM wurde zunächst in einer *in vitro* Studie getestet (Scholz M et al. 2005). Beschichtete und unbeschichtete Träger wurden dahingehend verglichen, inwieweit sie in der Lage sind, Interleukin-8 vermittelte neutrophile Chemotaxis zu verhindern. Dazu wurden neutrophile Granulozyten von Patienten, die sich einer Herzoperation unterzogen, isoliert. Es stellte sich heraus, dass sobald der beschichtete Träger eingeführt wurde, die chemotaktische Aktivität der Neutrophilen gemindert wurde (Abdel-Rahman U et al. 2007). In einer folgenden experimentellen Tierversuchsreihe mit Schweinen wurde das LIM in den venösen beziehungsweise arteriellen Schenkel eines extrakorporalen Kreislaufs (Herz-Lungen-Maschine) eingeführt. Es konnte bestätigt werden, dass das LIM in der Lage ist, die Granulozyten zu inaktivieren und später in Apoptose zu versetzen (Cinatl J et al.

Einleitung

2000). Zudem konnte gezeigt werden, dass keine Anteile der anti-Fas Beschichtung des LIM unter physiologischen Blutflussbedingungen in den Kreislauf eingeschwemmt werden. Weiterführend wurde das LIM in einer klinischen humanen Studie im Rahmen von Herz-Bypass-Operationen mit einer Herz-Lungen-Maschine getestet (Abdel-Rahman U et al. 2007). Hier wurde das LIM in den venösen Schenkel der Herz-Lungen Maschine integriert. Es konnte im Beobachtungszeitraum eines Jahres postoperativ gezeigt werden, dass keine toxischen Nebeneffekte bei Einsatz des LIM entstehen (Scholz M et al. 2005). Außerdem konnte das LIM signifikant den perioperativen Anstieg der polymorphnukleären Elastase (PMNE), wesentliches Effektormolekül von Neutrophilen, sowie den Anstieg des Tumornekrosefaktors Alpha ($TNF\alpha$) mindern (Scholz M et al. 2005). Des Weiteren konnte eine Reduktion der Gewebeschädigungsmarker CK- und CK-MB nachgewiesen werden. Es ist daher möglich, dass durch die verminderte PMN vermittelte Antwort auch die Interaktion zwischen Neutrophilen und Endothel z.B. in Herz- und Lungengewebe vermindert ist und mit einer Reduktion einer Gewebeschädigung dort einhergeht (Kobayashi N et al. 1990).

2 Ziele der Arbeit

Ziel dieser Arbeit war es, die Gewebeschädigung in einem hämorrhagischen Großtiermodell und den Einfluss des LIM Systems auf die posthämorrhagische Gewebeschädigung anhand von Serummarkern, hämodynamischen Parametern sowie histologischen HE-gefärbten Schnitten zu untersuchen.

Um das LIM zu überprüfen galt es in Gemeinschaftsarbeit aller Doktoranden der Arbeitsgruppe ein geeignetes Großtiermodell zu etablieren. Jeder Doktorand führte hierbei die zur Beantwortung der Fragestellungen des jeweiligen Projektes notwendigen Teilschritte selbst durch.

2.1 Abgrenzung der Arbeit innerhalb des Forschungsvorhabens

Die vorliegende Arbeit ist Teil des Forschungsvorhabens „Aufbau und Etablierung eines hämorrhagischen Schockmodells im Tiermodell“. In einem ersten Schritt des Gesamtvorhabens sollte ein hämorrhagisches Schock-Modell durch die Arbeitsgruppe etabliert werden. Aufgrund des großen Umfangs der Studie wurde das hämorrhagische Schockmodell durch die gesamte LIM-Arbeitsgruppe der Klinik für Unfall- und Handchirurgie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf unter der Leitung von Prof. Dr. phil. nat. Martin Scholz etabliert und verifiziert. Die Forschungsgruppe umfasste fünf gleichberechtigte Doktoranden (Alberto Schek, Annina Ott, Ingo Witte, Jessica Baltés, Sarah Sadek). Die Untersuchungen zur Etablierung und Standardisierung des Tiermodells, welche in der vorliegenden Arbeit beschrieben sind, wurden unter aktiver Beteiligung aller fünf Doktoranden durchgeführt und sind als Gemeinschaftsarbeit anzusehen.

Innerhalb des Gesamtprojekts wurden durch die jeweiligen Doktoranden folgende Teilprojekte eigenverantwortlich durchgeführt:

Alberto Schek: *Untersuchungen zum Einfluss des Leukozyten-Inhibitions-Moduls auf die posthämorrhagische Inflammation und Gewebehypoxie im Tiermodell (Scheck A, 2010)*

Annina Ott: *Untersuchung zum Einfluss des Leukozyten-Inhibitions-Moduls auf die posthämorrhagische Aktivierung von neutrophilen Granulozyten im Tiermodell (Ott A, 2011)*

Ziele der Arbeit

Ingo Witte: *Untersuchungen zum Einfluss des Leukozyten-Inhibitions-Moduls auf die posthämorrhagische Hämodynamik im Tiermodell (Witte I, 2011)*

Jessica Baltes: *Untersuchungen zum Einfluss des Leukozyten-Inhibitions-Moduls auf die posthämorrhagische Entstehung von Apoptose in verschiedenen Organen (Baltes J, 2011)*

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Auswirkung des LIM auf die posthämorrhagische Gewebeschädigung im Tiermodell zu untersuchen.

Als Grundlage für diesen abgegrenzten Forschungsteil diente:

1. die Quantifizierung der organspezifischen Serumparameter Aspartat-Aminotransferase (AST), Alanin-Aminotransferase (ALT), Kreatin-Kinase (CK), CK-MB, Troponin-T und Kreatinin.
2. die intraoperativ abgeleiteten pulmonalen kapillären Verschlussdrücke (PCWP = *Pulmonary Capillary Wedge Pressure*) und mittleren pulmonalarteriellen Drücke (MPAP) als hämodynamischer Surrogatparameter für die pulmonale und/oder kardiale Schädigung.
3. Hämatoxylin-Eosin (HE) gefärbte Organschnitte.

2.2 Untersuchung der posthämorrhagischen Gewebeschädigung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde überprüft, ob im Großtiermodell ein Gewebeschaden nach hämorrhagischem Schock, beurteilt und gemessen anhand Serumparameter, hämodynamischer Parameter und histologischer Schnitte, nachweisbar war. Hierzu wurden die aufgearbeiteten histologischen Schnitte hinsichtlich schockspezifischer Veränderungen begutachtet. Es sollte dargestellt werden, ob die histologischen Veränderungen mit den jeweiligen organspezifischen Serumparametern bzw. den zugehörigen hämodynamischen Werten korrelieren und in wieweit sich eine schockspezifische, histologische Organveränderung nachweisen lässt.

2.3 Einfluss des LIM Verfahrens auf die Gewebeschädigung

In einem weiteren Schritt wurden die histologischen Schnitte, die Serumparameter sowie die hämodynamischen Werte der Standard of medical care Gruppe (SMC) mit denen der LIM-Gruppe verglichen um potentielle Effekte des LIM-Systems auf etwaige Gewebeschädigungen zu beurteilen.

3 Material und Methoden

3.1 Versuchstiere

Die Versuchsreihe wurde nach Überprüfung und Zustimmung der Ethikkommission gemäß §8 Absatz 1 des Tierschutzgesetzes am Institut der Tierversuchsanlage der Heinrich Heine Universität durchgeführt (Aktenzeichen: 9.93.2.10.34.07.029). Das Versuchstierkollektiv bestand aus 33 Schweinen der Gattung Münchener Miniatur Schweine (TROLL Schweine). Für spezielle experimentelle Versuchsreihen werden diese aus der Kreuzungslinie „Hanford-Miniaturschwein“ und dem „Kolumbianischen Portionsschwein“ gezüchtet. Miniaturschweine werden in der Forschung aufgrund von leichterem und billigerer Haltung verwendet. Sie zeigen eine dem Menschen ähnliche Anatomie bezüglich Gewicht, Herz- und Kreislauffunktion (Marshall M et al. 1972). Alle Schweine unserer Versuchsreihe wurden bis zu einem gewünschten Gewicht von $30,3 \pm 3.3$ kg von der Tierversuchsanlage der Heinrich-Heine Universität artgerecht gezüchtet und gehalten. 24 von 33 Schweinen des Kollektivs wurden aufgrund vorher klar festgelegter Kriterien in die endgültige Auswertung mit eingeschlossen. Alle Versuchstiere waren klinisch gesund.

Gruppenaufteilung:

Kontrollgruppe:

Schweine ohne jegliche Intervention (n = 5).

SMC = *Standard of medical care* Gruppe:

Hämorrhagischer Schock nach festgelegtem Standard ohne extrakorporal eingeschaltetem Kreislauf sowie ohne LIM Therapie.

LIM-Gruppe:

Hämorrhagischer Schock nach festgelegtem Standard mit Einbringung eines extrakorporal eingeschalteten Kreislaufs sowie mit LIM Therapie.

Die SMC und LIM-Gruppe teilten sich in 12 Schweine der SMC-Gruppe und 12 Schweine der LIM-Gruppe auf, mit jeweils 8 männlichen und 4 weiblichen Schweinen.

3.1.1 Haltungsbedingungen

Alle Schweine wurden unter gleichen Bedingungen aufgezogen und bis zum Operationszeitpunkt in der Tierversuchsanlage (TVA) der Heinrich-Heine-Universität gehalten. Der Lebensraum bestand aus einem Raum mit sowohl Tageslicht als auch artifizieller Beleuchtung. Der Tag-Nachtrhythmus wurde durch ein 12 Stunden Beleuchtungsintervall aufrechterhalten. Wasser und Futter erhielten die Tiere durch die zuständigen TVA Mitarbeiter sowie durch uns ad libitum. Alle Schweine wurden 24 Stunden vor der Operation in einer Einzelbox nahrungskarent gehalten. Wasser bekamen sie weiterhin bedarfsorientiert.

3.1.2 Prämedikation und OP-Vorbereitung

Das Tier wurde vor der Operation gewogen und dann mit einer intramuskulären Ketamin Dosis (20 mg/ kg KG) sediert. Nach Wirkungseintritt wurde das Tier spontanatmend auf einem Transporttisch in die OP-Schleuse verbracht. Dort wurde dem Schwein eine Verweilkanüle in eine Ohrvene gelegt, um hierüber die Narkose mit Stresnil (Azaperon 2 mg/ kg KG), Thiopental (Thiopental 3 – 5 mg/kg KG) und Atropin einzuleiten. Im relaxierten Zustand erfolgte die endotracheale Intubation mit einem 6 – 7 mm Durchmesser großen Tubus. Die richtige Lage des Tubus wurde auskultatorisch bestätigt, danach geblockt und in seiner Position fixiert. Vorbereitend wurden die Operationsbereiche rasiert. Die auf dem OP-Tisch gelagerten Schweine wurden in Rückenlage auf einem Heizkissen an den Pfoten mit Mullbinden fixiert. EKG Elektroden wurden zwecks kontinuierlicher Ableitung angebracht. Nach Überprüfung der Herzfrequenz und des korrekt abgeleiteten EKGs erfolgte das sterile Abdecken und Abwaschen des Operationsgebietes.

3.1.3 Intraoperative Anästhesie und Ventilation

Nach erfolgreicher Narkoseeileitung wurde die Ventilation mit Isofluran 1 % bis 2,5 Vol.-% (je nach Operationsphase), einer Lachgas-Sauerstoffmischung im Verhältnis 3:1 und einem angepassten Tidalvolumen aufrechterhalten. Richtlinie hierbei war ein Sauerstoffpartialdruck (PaCo₂) Wert zwischen 36 und 44 mmHg und

ein PaO₂ Wert zwischen 100 und 150 mmHg. Reguliert wurde dieses kapnographisch anhand des endexpiratorischen CO₂ Gehaltes des Ausatemgas. Die Atemfrequenz lag zwischen 10 – 12 Atemzüge pro Minute, bei einem Atemzugvolumen von 300 – 500 ml. Zusätzlich wurde eine 5 %ige Glucoselösung mit Inzolen, mit 50 ml / h über die Ohrvene verabreicht. Bei Gegenatmung oder stark erhöhter Herzfrequenz als Schmerzausdruck folgte zusätzlich zur Analgesie die Gabe von Piritramid (7,5 mg Piritramid) beziehungsweise Fentanyl.

3.1.4 Benötigte Katheter und ihre chirurgische Einführung

Alle invasiven Maßnahmen erfolgten unter sterilen Bedingungen. Zur Einhaltung der Sterilität wurde das jeweilige Operationsgebiet mit jodhaltiger Desinfektionslösung desinfiziert und mit OP-Klebefolie (Opsite® Folie) und OP-Tüchern abgedeckt. Die Fixierung erfolgte nach Kontrolle der regelrechten Lage aller Katheter.

3.1.5 Suprapubischer Blasenkatheter

Über eine mediane Laparotomie von ca. 6 cm wurde bis zum Erreichen des sicheren Punktionszuganges der Harnblase präpariert. Über diesen gelang die Punktion der Harnblase mittels Zystofix Blasenpunktionsset (Braun, Melsungen). Nach Überprüfung der korrekten Katheterlage (Urinabfluss klar) erfolgte die Fixation des Katheters mit Tabaksbeutelnaht (Vicryl 3 – 0). Es folgten Fascienverschluss, Subkutannaht und Hautnaht. Die kontinuierliche Ableitung und Dokumentation der Ausscheidung erfolgte während der Operation in einen dafür vorgesehenen Urinsammelbeutel.

3.1.6 Arterieller Katheter

Die linke Arteria Carotis interna wurde über einen medianen Halsschnitt von etwa 10 cm Länge freigelegt, mit roten Vessel-Loops angezügelt um dann in Seldinger Technik einen 5-French Katheter einzuführen. Es folgten das Anschließen des Katheters mit dem Drucksystem des Monitors, auf welchem die arterielle Druckkurve zum hämodynamischen Monitoring abgeleitet wurde. Zusätzlich wurde die Entnahme arterieller Blutgasanalysen über den arteriellen Katheter vorgenommen.

3.1.7 Shaldon-Katheter

Über selbigen medianen Halsschnitt erfolgt die Freilegung der linken Vena jugularis externa, in welche ein dreilumiger 8 French Shaldon Katheter in Seldinger Technik platziert wurde. Die Funktionen des Sheldon Katheters sind Blutprobenentnahme, Einleitung und Erhalt des hämorrhagischen Schocks und Anschluss der extrakorporalen Zirkulation während der Reperfusionphase.

3.1.8 Pulmonalarterienkatheter (Swan-Ganz-Katheter)

In die rechte Vena jugularis externa wurde in Seldinger Technik die Katheterschleuse eingeführt um über diese den Pulmonalkatheter langsam unter kontinuierlicher Druckkontrolle auf dem Monitor herzwärts einzuführen (Pulmonalkatheter = Swan-Ganz-Katheter, Edwards Lifesciences, Irvine, California, USA).

Erreichte die Katheterspitze die Vena Cava superior, wurde der an der Spitze befindliche Ballon aufgeblasen und vorsichtig bis über den rechten Vorhof durch die Trikuspidalklappe in den rechten Ventrikel und von dort durch die Pulmonalklappe in eine Lungenarterie eingeschwenkt. Die richtige Position war dann erreicht, wenn auf dem Monitor die *Wedge*-Druckkurve erschien. Unter Entblockung des Katheters war die Pulmonalarteriendruck-Kurve ersichtlich. Zur zusätzlichen Kontrolle wurde der Katheter bei komplizierter Einführung unter Durchleuchtung eingeschwenkt. Die Meßgrößen und der Verwendungszweck des vierlumigen Pulmonalkatheters waren die Ableitung der/des:

- Gemischtvenösen Sauerstoffsättigung (svO₂)
- Zentralen Venendruckes (ZVD)
- Mittleren pulmonal arteriellen Druckes (MPAP)
- Pulmonalkapillären Verschlussdrucks (*Wedge Pressure*, PCWP = *pulmonary capillary wedge pressure*)
- Herzzeitvolumen (HZV)

3.1.9 Intraoperatives Monitoring

Die Pulsoxymetrie wurde durch einen am Ohr befestigten Pulsoxymeter abgeleitet. Im fünfminütigen Abstand wurden folgende Parameter dokumentiert:

- Herzfrequenz (HF)

Material und Methoden

- Blutdruck systolisch, sowie diastolisch (RRsys., RRdiast.)
- Mittlerer arteieller Blutdruck (MAP)
- Zentraler Venendruck (ZVD)
- Temperatur
- Herzzeitvolumen (HZV)
- Atemfrequenz pro Minute
- Zentral-venöse-Sauerstoffsättigung (svO₂)
- Mittlerer pulmonalarterieller Verschlussdruck (MPAP)
- Pulmonalkapillärer Verschlussdruck (PCWP)
- Sauerstoffpartialdruck (pCO₂)
- Sauerstoffsättigung (FiO₂ %)
- Atemzugvolumen
- Urinausscheidung
- Blutentnahme und Substitution

Blutproben zur Bestimmung der Blutgase wurden in zehnminütigen Abständen während der gesamten Operation abgenommen und mittels Blutgasanalyzesystem in der Tierversuchanlage bestimmt (ABL800 Flex, Radiometer GmbH, Willich, Deutschland). Die venösen Blutabnahmezeitpunkte waren bei allen Schweinen gleich und nach einem von uns im Vorfeld erstellten Schema festgelegt. Für die verschiedenen laborchemischen Tests benötigte man folgende Röhren: Serum, EDTA, Gerinnung/Citrat, Heparin/FACS und Urin.

3.1.10 Der hämorrhagische Schock und die LIM Phase

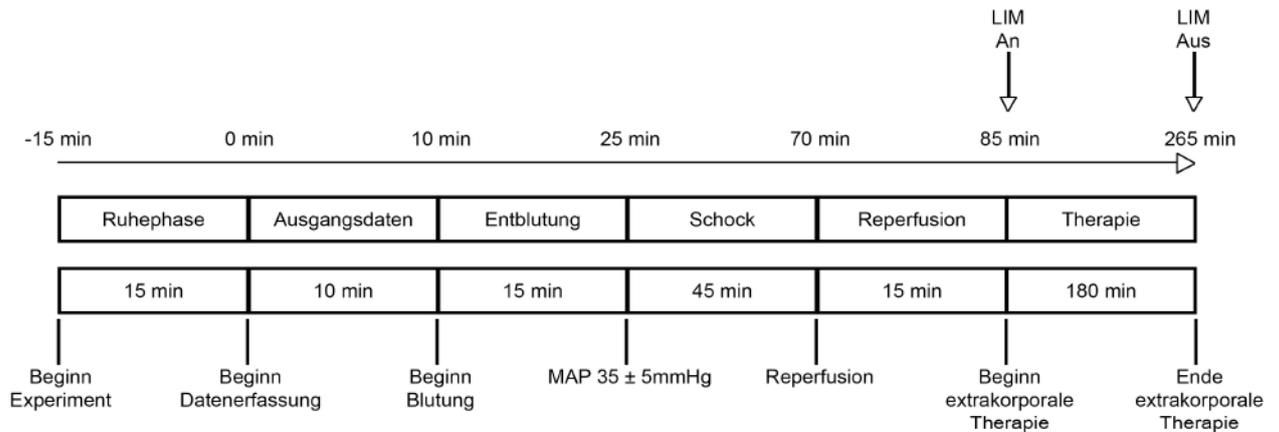


Abb. 8: Zeitleiste der Versuchsreihe, graphisch dargestellt mit Blutabnahmezeitpunkten in Abhängigkeit von der Schockphase und dem verwendeten LIM-System (Loegters T et al. 2010)

Der zeitliche Ablauf des Versuchs ist in Abbildung 8 schematisch dargestellt. Nach Implantation aller Katheter folgte eine 15 minütige Ruhephase. Hier wurden die hämodynamischen Parameter kontinuierlich erfasst und als Ausgangswerte benutzt. Anschließend erfolgte die Einleitung des hämorrhagischen Schocks durch Abnahme von Blut über den Sheldon-Katheter.

Im Mittel belief sich das entnommene Blut auf 586 ± 22 ml (Schock ohne LIM = SMC-Gruppe 555 ± 34 ml, Schock mit LIM = LIM-Gruppe 616 ± 26 ml). Innerhalb von 15 Minuten sank durch rasche Blutabnahme der MAP auf 35 ± 5 mmHg, welcher durch intermittierende Abnahme für weitere 45 Minuten auf einen Wert um die 40 ± 5 mmHg gehalten wurde. Die Schockphase dauerte insgesamt 60 Minuten.

Nach der Schockphase folgte die 15 minütige Reperfusionsphase. 961 ± 28 ml kristalloide Ringer-Lösung wurden zu Reperfusionszwecken transfundiert. Ziel war es einen MAP von ungefähr 90 % des Ausgangswertes zu erreichen. In der LIM-Gruppe ($n = 12$) folgte jetzt die Phase der extrakorporalen Zirkulation (Abbildung 9). Hierzu wurde das System vorher mit NaCl-Lösung durchgespült, um danach mit 200 IU/kg heparinierter Kochsalzlösung (Liquemin; Roche, Grenzach-Wyhlen, Deutschland) gefüllt zu werden. Dadurch wurde eine adäquate Antikoagulation des Plastikgehäuses sowie des Polyurethanschaums gewährleistet. Über zwei Schenkel des Sheldon Katheters schloß man das LIM-System an. Die Flussgeschwindigkeit

Material und Methoden

betrug 300 ml/min, angetrieben durch eine Dialysepumpe. Das LIM war insgesamt drei Stunden angeschlossen.

Bei der SMC-Gruppe (n = 12) fand kein extrakorporaler Kreislauf statt. Die Tiere wurden lediglich über einen Zeitraum von 3 Stunden überwacht. Beide Gruppen erhielten die gleiche Dosis Heparin. In folgender Abbildungen ist das LIM System schematisch dargestellt (Abb. 9).

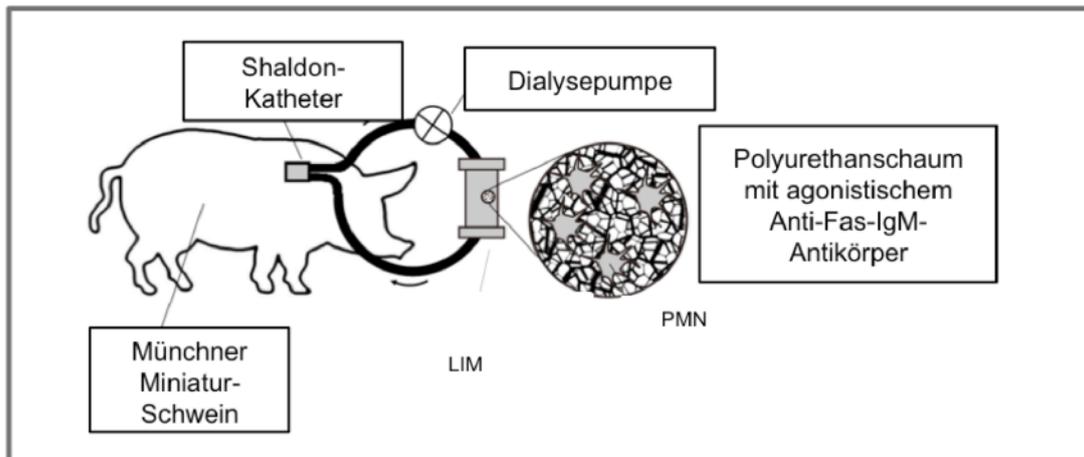


Abb. 9: Extrakorporaler Kreislauf mit eingeschaltetem LIM (Loegters T et al. 2010)

Nach dieser dreistündigen Phase wurde das LIM erneut mit einer heparinisierten Kochsalzlösung durchspült und die Flüssigkeit mit dem Rest-Blut in den Kreislauf des Schweines geleitet, um einem weiteren Blutverlust durch in dem Schaum verbleibenden Mengen entgegenzuwirken. Alle Schweine (LIM und SCM Gruppe) erhielten so über die Operation verteilt 5000 IU Heparin. Nach Diskonnektion des LIM wurden alle weiteren Katheter ebenfalls mit einer Heparin-Kochsalzlösung gespült und anschließend unter der Haut versenkt. Ein Schenkel des Shaldon-Katheters blieb für spätere Blutentnahmen am wachen Tier aus der Haut ausgeleitet. Nach Verschluss aller Wunden, Versorgung dieser mit Pflastern, Extubation, Spontanatmung und einsetzenden Schutzreflexen des Tieres wurden die Schweine in ihre Einzelboxen zurück transportiert. Dort wurden sie unter einer Wärmelampe solange nachbeobachtet bis sie aus der Narkose aufwachten, kreislaufstabil sowie spontanatmend waren.

3.1.11 Nachbeobachtungsphase

Alle Tiere beobachteten wir 48 (n = 12; 6 aus jeder Gruppe) beziehungsweise 72 Stunden (n = 12; 6 aus jeder Gruppe) nach. In dieser Zeit wurde morgens um 8:00 Uhr und abends um 20:00 Uhr der Urinbeutel geleert, davon eine Urinprobe entnommen und der Zustand des Tieres anhand von Vigilanz, Urin- und Kotausscheidung beurteilt. Über den freiliegenden Schenkel des Shaldon Katheters wurde Blut zur Bestimmung des Differentialblutbildes, der Blutgasanalyse und der Gerinnung entnommen.

3.1.12 Zweite Operationsphase

Die zweite Operationsphase begann wie die erste mit Analgosedierung, Anästhesie, Intubation und Ventilation. Alle Katheter wurden wieder angeschlossen um nach einer 30-minütigen Ruhephase erstens die hämodynamischen Parameter zu erfassen und zweitens Blut zu entnehmen. Diese Operationsphase dauerte mit Ruhezeit und 15 Minuten intraoperativer Beobachtung 45 Minuten. Zwecks Organentnahme erlagen die Tiere nach Injektion einer Barbiturat Lösung (Eutha 77) dem Tod. Nach Feststellung des Todes und Explantation aller Fremdkörper kamen die Schweine in den Sektionssaal der Tierversuchsanlage.

3.1.13 Obduktion/Autopsie

Alle Schweine wurden im Sektionssaal auf dem Rücken fixiert. Nach vier Entlastungsschnitten an allen Extremitäten wurde der Situs durch eine Längslaparotomie eröffnet. Zunächst inspizierte man die Organe Herz, Lunge, Leber, Nieren, Milz und Darm nach Auffälligkeiten. Waren Besonderheiten makroskopisch erkennbar, wurden diese schriftlich protokolliert um dann eine gesonderte Probe aus dem betroffenen Areal entnehmen zu können. Folgende Proben wurden standardmäßig entnommen:

- Lunge: Eine Probe hilusnah, eine peripher
- Herz: Probe aus der Vorderwand des linken Ventrikels
- Leber: Probe aus einem möglichst mittigen Teil der Leber
- Nieren: Gewebeentnahme zentral, so dass die Nierenrinde bis zum Nierenbecken später beurteilbar war
- Milz: keine besonderen Vorgaben

- Darm: Probe mit Mesoansatz 2 – 8 cm oberhalb der Bauhin'schen Klappe
Zusätzlich zu der LIM und SMC-Gruppe wurden oben genannte fünf Kontrollschweine euthanasiert um ihre Organe und im Vorfeld gemachte Blutentnahmen zum Zwecke des Vergleichs zu erhalten. Aus jedem Organabschnitt gewann man jeweils drei Proben, für spätere elektronenmikroskopische Begutachtung, Gefrierschnitte und für die Parafineinbettung.

3.1.14 Histologie

Die zu histologischen Zwecken entnommenen Proben wurden in 4 %-ige Formaldehydlösung in 50 ml Falcon-Röhrchen gelegt. Zum Verdünnen des Formaldehyds wurde PBS w/o Lösung gebraucht. Die Proben zur Elektronenmikroskopie wurden in 50 ml Falcon-Röhrchen mit einer 5 prozentigen Glutaraldehydlösung eingelegt und die Behälter entsprechend gekennzeichnet. Zum verdünnen des 25 prozentigen Glutaraldehyds wurde ebenfalls PBS w/o benutzt. Die Gefrierschnitt-Proben wurden unmittelbar nach Gewinnung eingefroren. Dazu wurden 50 ml Falcon-Röhrchen mit Isopenthan in flüssigem Stickstoff gekühlt. Die Proben wurden auf einen Tropfen Kleber auf die vorher mit Bleistift beschrifteten Korkplättchen gelegt und mit einer Pinzette in das gekühlte Isopenthan gehalten bis der Kleber weiß wurde. Danach wurde das Korkplättchen mit dem Gewebe in ein leeres Falcon Röhrchen gelegt, welches dann in flüssigem Stickstoff aufbewahrt wurde. Die in Formaldehyd fixierten Gewebeschnitte wurden in Paraffin eingebettet um die Paraffinblöcke später in 5µm dünne Schichten zu schneiden und mit Hämatoxylin-Eosin für pathologische Untersuchungen aufzuarbeiten. Die Färbung der Schnitte erfolgte im pathologischen Institut der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf. Außerhalb dieses Teilprojektes wurden die Schnitte zusätzlich mit Chloracetatesterase gefärbt um spezifisch die Infiltration von Neutrophilen ins jeweilige Gewebe quantifizieren zu können (Teilprojekt Ott A, 2011). In diesen Schnitten wurden die Neutrophilen mikroskopisch (Axiovert 40, Zeiss, Jena, Deutschland) nach standardisierter Methode ausgezählt (Ott A, 2011).

3.1.15 Paraffineinbettung

Die Paraffin-Einbettung verfolgt den Zweck der bestmöglichen Strukturhaltung. Nach vorausgegangener Fixierung mittels Formaldehyd erfolgte die Einbettung der Gewebe in Paraffin. Hierzu wurde zuerst das Fixierungsmittel in Wasser ausgewaschen. Danach erfolgte die eigentliche Entwässerung mit einer in der Konzentration aufsteigenden Alkoholreihe mit Isopropanol. Es folgte eine Inkubation in einem Intermediärmedium (Xylol), danach das Einbringen der Gewebe in heißes Paraffin. Aus dem heißen Paraffin wurden die Gewebe in Blöcke eingegossen. Mit einem Mikrotom wurden die Schnitte nach Kühlung mit einer Dicke von 5µm angefertigt. Die erhaltenen Schnitte wurden in ein Kaltwasserbad und dann in ein Heißwasserbad gelegt und schließlich glatt auf einen Objektträger aufgezogen. Die aufgezogenen Schnitte wurden getrocknet und erneut mit Xylol entparaffiniert und durch eine absteigende Alkoholreihe wieder in ein wässriges Milieu überführt.

3.1.16 Die Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Die Hämatoxylin-Eosin (HE) Färbungen der angefertigten Schnitte wurden im Institut für Pathologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf durchgeführt. Die HE Färbung dient der Färbung von Zellkernen mit Hämatoxylin sowie des Zytoplasmas mit Eosin. Diese Färbemethode gilt als Standardfärbung in der Histologie, um Informationen über verschiedene Gewebe zu gewinnen. Die Färbung erlaubt Aussagen über z.B. entzündliche oder degenerative Veränderungen.

Nach Entparaffinierung und Rehydratation erfolgte die HE Färbung nach standardisierter Methode: 3-minütiges Färben der Präparate in Hämalaun Lösung, kurzfristiges Spülen in Salzsäure Lösung 0,1 %, 3- bis 5-minütiges Differenzieren in fließendem Leitungswasser mit anschließendem Färben in Eosin-B-Lösung (0,5 % wässrig) und nachfolgend erneutes Spülen mit Leitungswasser für die Dauer einer halben Minute. Hiernach wurden die Schnitte in eine aufsteigende Alkoholreihe getaucht, mit Xylol fixiert und mit Entellan übergossen.

3.2 Statistik

Alle statistischen Analysen wurden mit Hilfe von SAS/Stat *for windows software* (SAS Institute, Inc., Cary, NC, Version 8) sowie SPSS (SPSS, Inc., Chicago, IL, Version 15) durchgeführt. Die nicht-parametrischen Analysen der Varianz (ANOVA)

Material und Methoden

der Roh-Daten wurden gemacht, um spezifische Gruppen- sowie Zeitverlauf Unterschiede festzustellen. Die Daten gelten als statistisch signifikant bei einem p-Wert < 0.05. Der *Van der Waerden* zwei Methoden Test zeigt spezifische Unterschiede innerhalb der Gruppen. Der *Wilcoxon Paired* Test dient der Feststellung von Zeitverlaufunterschieden (Zeitpunkt versus Startpunkt). Alle Daten werden als Mittelwerte \pm *Standard Error of the Mean* = Standardabweichung (SEM) präsentiert.

3.3 Material- und Geräteliste

Aquamont	Fa. Dako, Hamburg, Deutschland
Arterieller Katheter , 5 Fr	Fa. Braun, Melsungen, Deutschland
Atropinsulfat 0,5 mg/ml	Fa. Braun, Melsungen, Deutschland
Axioskop 40	Fa. Zeiss, Jena, Deutschland
Azaperon	Fa. Janssen Pharmaceutica Beerse
Beißschutz aus Holz	
BGA Gerät ABL 800 Flex	Fa. Radiometer GmbH, Willich, Deutschland
Blasenkatheter Cystofix	Fa. Braun, Melsungen, Deutschland
Dreilumiger 8 Fr Sheldon-Katheter	Fa. Arrow / Teleflex Medical, Westmeath, Ireland
DPBS mit Ca und MG	Fa. Pan Biotech, Aidenbach, Deutschland
EDTA 0,04 g i. A. – dest.	Fa. Sigma, München, Deutschland
Einführungsschleuse 8 Fr	Fa. Edwards Lifescience, Irvine, California, USA
Endotrachealer Tubus 6 – 7 mm	Fa. Malinckrodt, Athlone, Ireland
Falcon Tubes 50 ml	Fa. Becton & Dickinson, Heidelberg, Deutschland
Fentanyl 50 µg / ml	Fa. Rationpharm, Ulm, Deutschland
Formaldehydlösung 4 %	Fa. Sigma, München, Deutschland
Glutaraldehyd 25 %, 1 %	Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland
Glycerol	Fa. Roth, Karlsruhe, Deutschland
Hämatoxylin-Eosin	Fa. Sigma, München, Deutschland
Isofluran 1 %	Fa. Baxter, Unterschleißheim, Deutschland

Material und Methoden

Isopropanol	Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland
Inzolen-Lösung	Dr. Franz Köhler Chemie, Bensheim, Deutschland
Ketamin	Fa. Veterinaria AG, Zürich, Schweiz
Lachgas-Sauerstoff-Mischung	Fa. Linde AG, Pullach, Deutschland
Paraffin	Fa. Sigma, München, Deutschland
PBS w/o Lösung	Fa. Biochrom AG, Berlin, Deutschland
Periphervenöser Zugang 1,1 mm	Fa. Braun, Melsungen, Deutschland
Phenobarbital (Eutha® 77)	Fa. Veterinaria AG, Zürich, Schweiz
Piritramid	Fa. Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland
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
Swan & Ganz-Katheter	Fa. Edwards Lifesciences, Irvine, California, USA
Thiopental	Fa. Inresa Arzneimittel, Freiburg, Deutschland
VET-ABC	Fa. scil animal care Company, Viernheim, Deutschland
Vigilance Monitor	Fa. Edwards Lifesciences, Irvine, California, USA
Xylol	Fa. Sigma, München, Deutschland

4 Ergebnisse

4.1 Gruppendifinition

In der Versuchsreihe wurden drei Gruppen miteinander verglichen:

1) SMC-Gruppe = *Standard Medical Care* Gruppe = Schock ohne LIM = nLIM.

Die Gruppe Versuchstiere (n = 12), welche zwar einem hämorrhagischen Schock unterzogen wurde, jedoch keine LIM-Therapie erfuhr.

2) LIM-Gruppe = Schock mit LIM.

Die Gruppe Versuchstiere (n = 12), welche einen hämorrhagischen Schock erfuhr und zusätzlich eine Therapie mit LIM erhielt.

3) Kontrollgruppe = Versuchstiere, welche weder einem hämorrhagischen Schock noch einer Therapie mit LIM unterzogen wurden.

Ihnen wurde vor der Euthanasie Blut und später die Organe entnommen. Sie dienten als Referenzgruppe zur Auswertung der histologischen Ergebnisse.

4.2 Allgemeine Erläuterung

Im Ergebnissteil werden im ersten Abschnitt die organspezifischen Parameter als Maß für die Gewebeschädigung im Zuge eines hämorrhagischen Schockes dargestellt. CK, CK-MB und Troponin-T werden als Maß für eine kardiale, die Transaminasen (AST, ALT) für eine hepatogene sowie Kreatinin für eine renale Gewebeschädigung aufgeführt.

Im zweiten Abschnitt werden die Parameter PCWP und MPAP als Maß für eine pulmonale Belastung analysiert.

Im dritten Abschnitt werden Ergebnisse der histologischen Auswertung der HE-gefärbten Organschnitte beschrieben.

4.3 Serumparameter

Dargestellt sind jeweils Mittelwerte \pm Standardabweichung (MW \pm SEM) aller Schweine einer Gruppe zu definierten Zeitpunkten. Die Graphiken zeigen jeweils die SMC-Gruppe sowie die LIM-Gruppe. Beide Gruppen haben eine Größe von 12 Tieren, wobei die Gruppengröße zu den Nachbeobachtungszeitpunkten 48 und 72 Stunden aus jeweils 6 Tieren besteht.

Ergebnisse

4.3.1 Creatinkinase CK und CK-MB

In Abbildung 10 und 11 sind die Serumparameter CK sowie CK-MB von SMC- und LIM-Gruppe im Vergleich dargestellt. Gemäß Versuchprotokoll erfolgten die Blutabnahmen zu den oben beschriebenen Zeitpunkten.

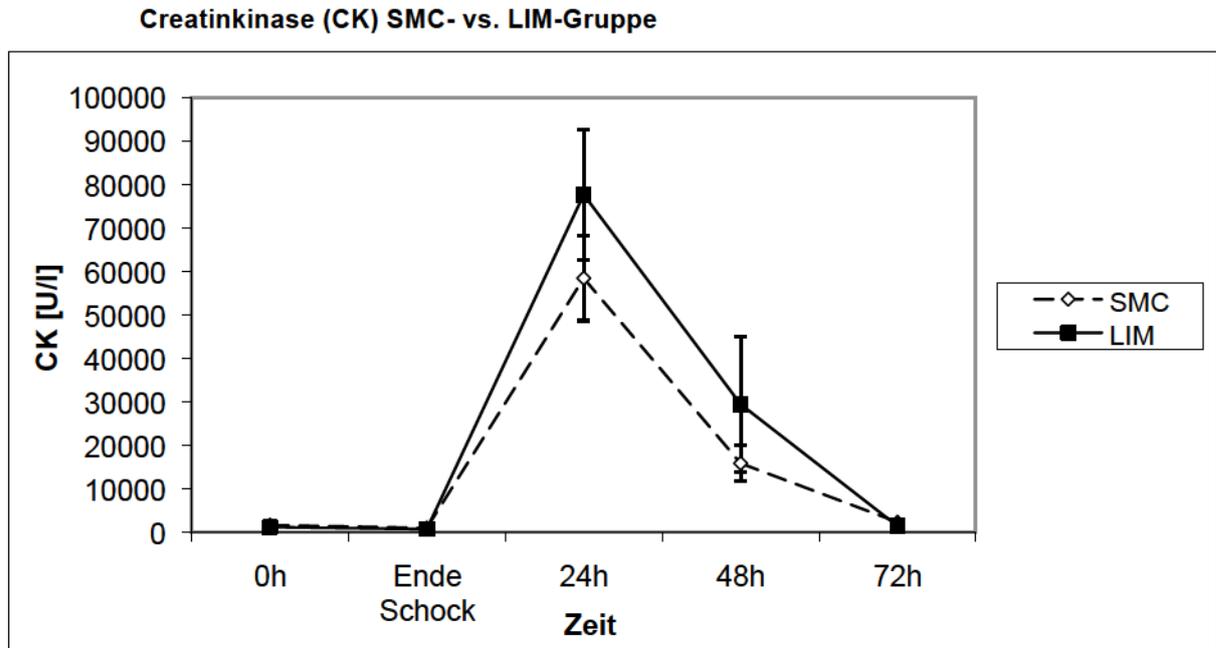


Abb. 10: CK-Konzentration im Serum der SMC- im Vergleich zur LIM-Gruppe. Es sind die Mittelwerte der SMC-Gruppe und der LIM-Gruppe zu den ausgewählten Zeitpunkten im Vergleich abgebildet. Als Fehlerindikator ist der Standardfehler des arithmetischen Mittelwertes (SEM) dargestellt.

Die Differenz der Ausgangswerte der CK lag in der SMC- sowie der LIM-Gruppe bei Versuchsbeginn nur geringfügig auseinander (CK-SMC-Gruppe: 1643 ± 220 U/L, CK-LIM-Gruppe: 1183 ± 87 U/L). Am Ende des Schockgeschehens war ein geringer Abfall der CK in beiden Gruppen festzustellen (CK-SMC-Gruppe: 982 ± 134 U/L, CK-LIM-Gruppe: 716 ± 56 U/L). Nach 24 Stunden war ein starker Anstieg der CK in beiden Gruppen zu verzeichnen (SMC-Gruppe: CK 58420 ± 9767 U/L, LIM-Gruppe: CK 77653 ± 14960 U/L).

Im weiteren Verlauf sanken die CK-Werte in beiden Gruppen wieder signifikant ab. Auffallend war, dass die CK-Werte 72 Stunden nach Schock signifikant niedriger in der LIM-Gruppe (1431 ± 305 U/L) waren als in der SMC-Gruppe (2338 ± 233 U/L; $p < 0,05$).

Ergebnisse

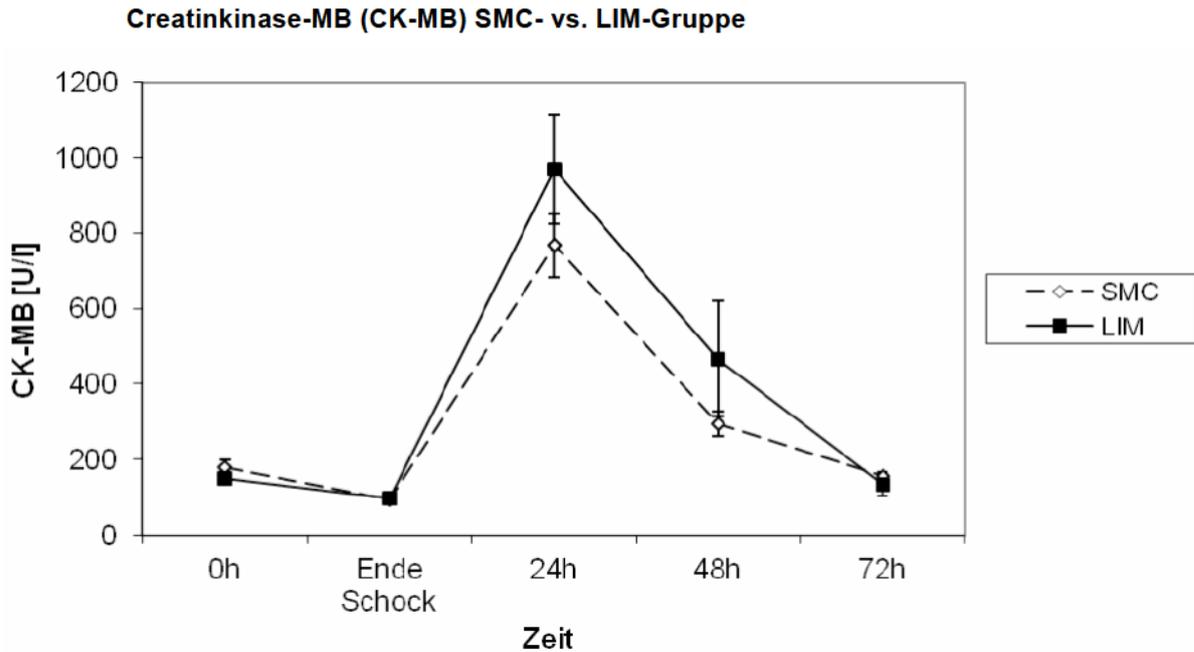


Abb. 11: CK-MB Konzentration im Serum der SMC- im Vergleich zur LIM-Gruppe. Es sind die Mittelwerte der SMC-Gruppe und der LIM-Gruppe zu den ausgewählten Zeitpunkten im Vergleich abgebildet. Als Fehlerindikator ist der Standardfehler des arithmetischen Mittelwertes (SEM) dargestellt.

Zu Beginn des Versuchs lagen die Werte der CK-MB in der LIM- sowie der SMC-Gruppe auf gleichem Niveau (CK-MB SMC-Gruppe: 180 ± 20 U/L, CK-MB LIM-Gruppe: 151 ± 6 U/L). Zum Ende des Schockgeschehens sanken in der LIM- und der SMC-Gruppe die Werte unter das Ausgangsniveau (SMC: 95 ± 13 U/L, LIM: 97 ± 10 U/L; $p > 0,05$). Wie für die CK stiegen auch die CK-MB Konzentrationen innerhalb der ersten 24 Stunden nach Schock signifikant an, ohne jedoch, dass ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen bestand. Zum Zeitpunkt 48 und 72 Stunden sanken die CK-MB Werte in beiden Gruppen erneut deutlich ab. Nach 72 Stunden erreichten die Werte in beiden Gruppen das Niveau zu Beginn des Versuchs, wobei diese niedriger in der LIM-Gruppe (134 ± 31 U/l) verglichen mit der SMC-Gruppe (156 ± 12 U/l) ($p < 0,05$) waren.

Nach Betrachtung beider Parameter lässt sich zusammenfassend feststellen, dass die Werte von CK und CK-MB in der SMC- und der LIM-Gruppe bei Versuchsbeginn auf gleichem Niveau lagen. Im Verlauf war für beide Parameter ein deutlicher Anstieg besonders nach 24 Stunden zu verzeichnen. Nach 72 Stunden waren beide Parameter erneut reduziert und auf Ausgangsniveau. In Bezug auf eine mögliche Gewebeschädigung weisen die Ergebnisse auf eine zumindest temporäre Minderperfusion des Myokards hin.

Ergebnisse

4.3.2 Troponin-T

Als Maß für eine kardiale Schädigung nach einem hämorrhagischen Schock wurde das Troponin-T bestimmt (Abb. 12).

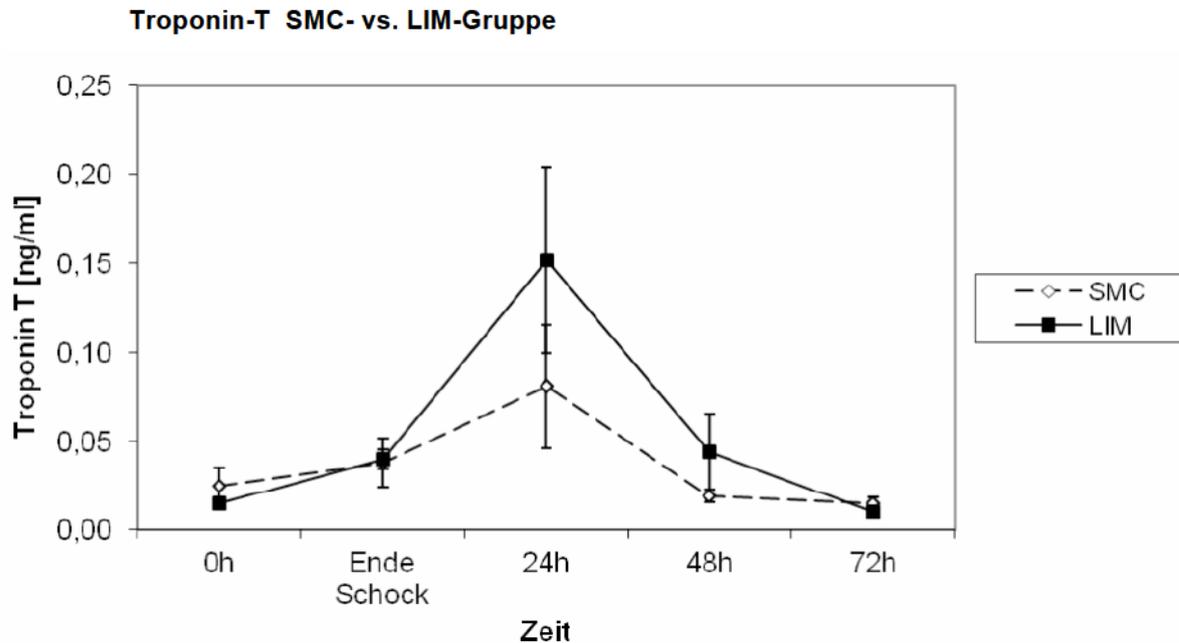


Abb. 12: Troponin-T Konzentration im Serum der SMC- im Vergleich zur LIM-Gruppe. Es sind die Mittelwerte der SMC-Gruppe und der LIM-Gruppe zu den ausgewählten Zeitpunkten im Vergleich abgebildet. Als Fehlerindikator ist der Standardfehler des arithmetischen Mittelwertes (SEM) dargestellt.

Die Troponin-T Ausgangswerte beider Gruppen unterschieden sich kaum (SMC: $0,03 \pm 0,01$ ng/ml, LIM: $0,02 \pm 0,003$ ng/ml; $p > 0,05$). Während des Schocks stiegen die Troponin-T-Werte in der LIM-Gruppe signifikant an. Insgesamt lagen die Werte jedoch innerhalb des für Schweine physiologischen Referenzbereichs von unter $0,05$ ng/ml. Deutlich erkennbar war ein Anstieg der Troponin-T-Serumkonzentrationen nach 24 Stunden in beiden Gruppen (SMC: $0,08 \pm 0,03$ ng/ml, LIM: $0,15 \pm 0,05$ ng/ml). Auch wenn in der LIM-Gruppe der Anstieg tendenziell stärker war, gab es zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede ($p > 0,05$). In beiden Gruppen erreichten die Troponin-T-Werte nach 72 Stunden wieder Werte nahe dem Ausgangswert (SMC: $0,02 \pm 0,006$ ng/ml, LIM: $0,01 \pm 0,00$ ng/ml). Ein signifikanter Unterschied der Troponin-T-Werte zwischen der LIM- und SMC-Gruppe lag während des gesamten Beobachtungszeitraumes nicht vor.

Ergebnisse

4.3.3 Leberspezifische Transaminasen AST und ALT

Die leberspezifischen Transaminasen AST und ALT wurden in beiden Gruppen zu definierten Zeitpunkten bestimmt. In Abbildung 13 und 14 sind die Verläufe der Transaminasen der LIM- und SMC-Gruppe dargestellt.

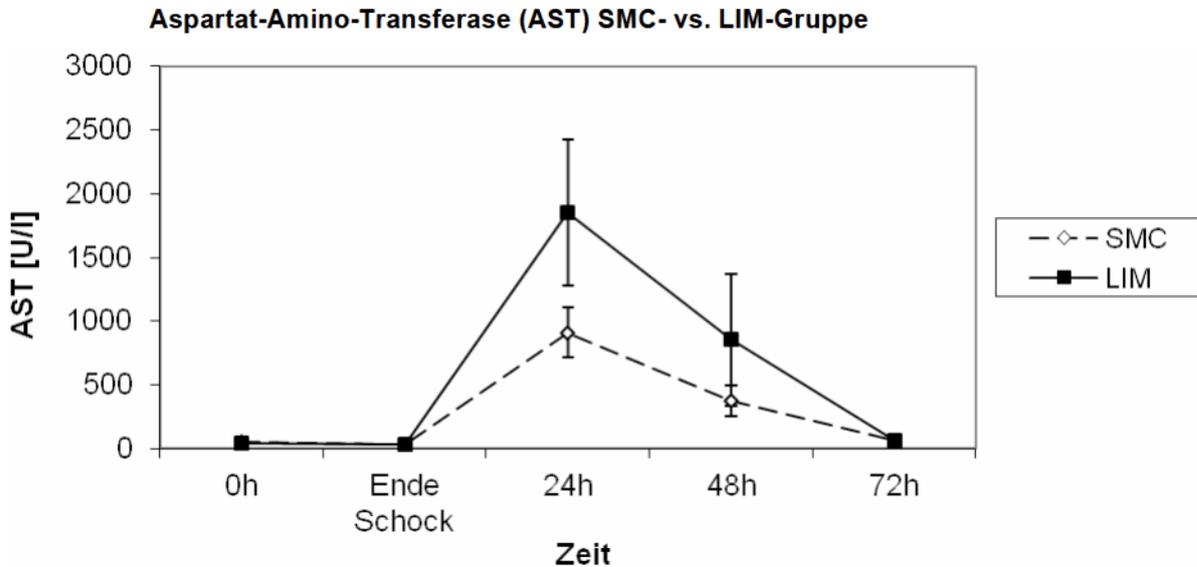


Abb. 13: AST-Konzentration im Serum der SMC- im Vergleich zur LIM-Gruppe. Es sind die Mittelwerte der SMC-Gruppe und der LIM-Gruppe zu den ausgewählten Zeitpunkten im Vergleich abgebildet. Als Fehlerindikator ist der Standardfehler des arithmetischen Mittelwertes (SEM) dargestellt.

Zu Beginn des Versuchs war in der SMC-Gruppe ein Mittelwert von $56 \pm 6,8$ U/L, in der LIM- Gruppe von $40 \pm 2,8$ U/L nachweisbar. Ein signifikanter Unterschied lag nicht vor. Am Ende des Schocks sanken die AST-Werte in beiden Gruppen nur geringfügig (SMC: 37 ± 4 U/L, LIM: $31 \pm 2,91$ U/L). Zum Zeitpunkt 24 Stunden stiegen die AST-Werte in beiden Gruppen um ein Vielfaches an. Für beide bestand eine signifikante Steigung über die Zeit (SMC: 912 ± 193 U/L, LIM: 1853 ± 572 U/L; $p < 0,05$). Im Anschluss sanken die AST Konzentrationen wieder bis zum Zeitpunkt 72 Stunden ab und lagen wieder nahe den Normwerten (48 Stunden: SMC: 378 ± 120 U/L, LIM: 854 ± 515 U/L; 72 Stunden: SMC: $62 \pm 6,8$ U/L, LIM: $64 \pm 9,7$ U/L). Signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen bestanden zu keinem Zeitpunkt.

Ergebnisse

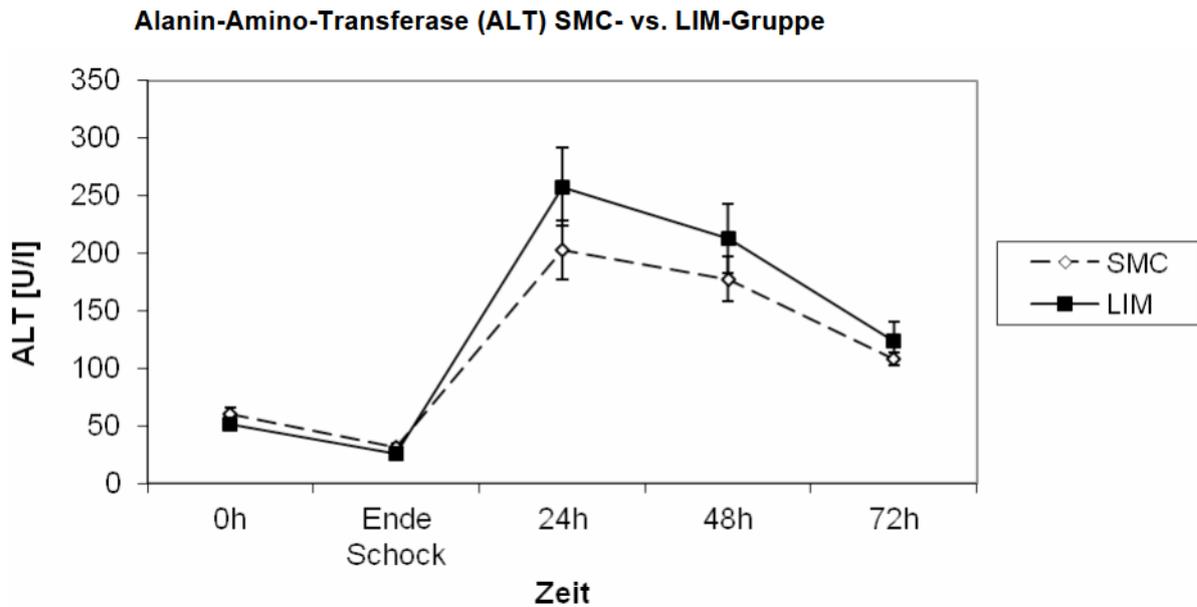


Abb. 14: ALT-Konzentration im Serum der SMC- im Vergleich zur LIM-Gruppe. Es sind die Mittelwerte der SMC-Gruppe und der LIM-Gruppe zu den ausgewählten Zeitpunkten im Vergleich abgebildet. Als Fehlerindikator ist der Standardfehler des arithmetischen Mittelwertes (SEM) dargestellt.

Zu Beginn lagen die ALT-Werte der LIM-Gruppe bei $51,1 \pm 3,0$ U/L, die der SMC-Gruppe bei $60 \pm 5,68$ U/L. 24 Stunden nach Versuchsbeginn stiegen in beiden Kollektiven die Werte um ein Mehrfaches auf SMC: $203 \pm 25,3$ U/L, LIM: $258 \pm 33,8$ U/L an, ohne jedoch dass ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen bestand. Zum Zeitpunkt 48 Stunden erkannte man eine abfallende Tendenz auf $178 \pm 19,2$ U/L (SMC) und $213 \pm 30,0$ U/L (LIM), die sich zum Zeitpunkt 72 Stunden fortsetzte. Interessanterweise fielen zwar die ALT-Werte wie die AST-Werte nach einem starken Anstieg nach 24 Stunden erneut ab, im Unterschied zu AST erreichten die ALT-Werte jedoch nicht das Niveau ihrer jeweiligen Ausgangswerte und blieben oberhalb der Normwertgrenze von 90 U/L.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass die Werte der Transaminasen AST und ALT zu Beginn der Versuchsreihe sowie am Ende des Schocks nur unwesentlich in beiden Gruppen differieren. Als Zeichen eines potentiellen Gewebeschadens der Leber waren kurzfristig (nach 24 Stunden) erhöhte Transaminasen nachweisbar, im weiteren Verlauf gab es, gemessen anhand AST und ALT, keine nachhaltige Funktionsstörung der Leber, unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit.

Ergebnisse

4.3.4 Kreatinin

Als nierenspezifischer Serumparameter wurde Kreatinin in mg/dl zu den bekannten Zeitpunkten bestimmt (Abb. 15).

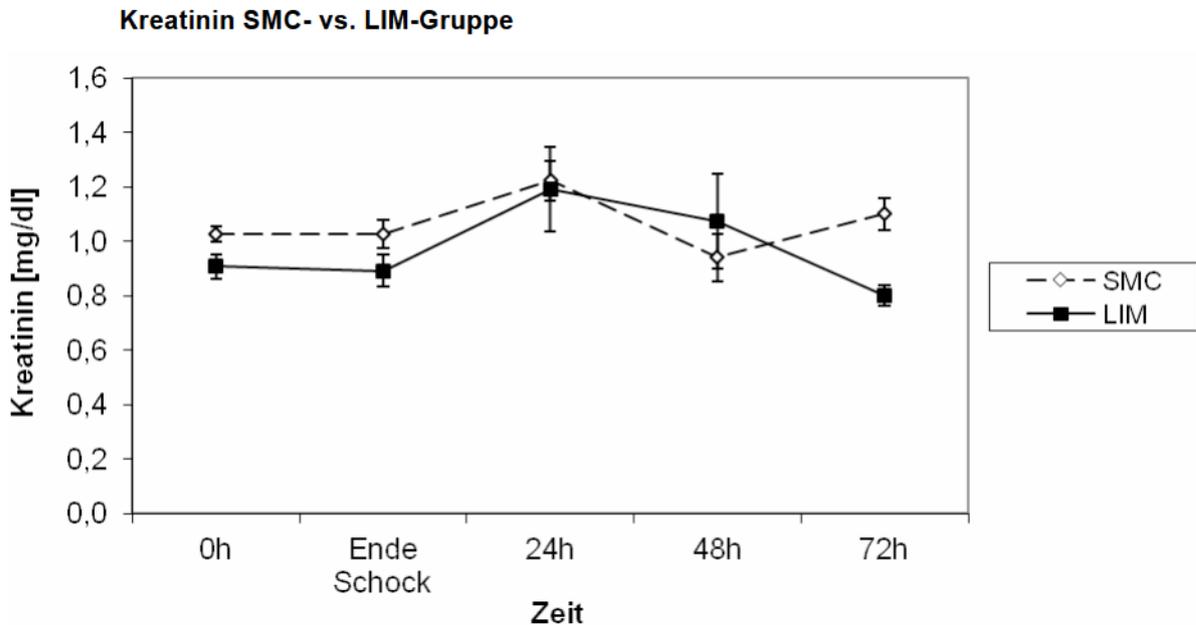


Abb. 15: Kreatinin Konzentration im Serum der SMC- im Vergleich zur LIM-Gruppe. Es sind die Mittelwerte der SMC-Gruppe und der LIM-Gruppe zu den ausgewählten Zeitpunkten im Vergleich dargestellt. Als Fehlerindikator ist der Standardfehler des arithmetischen Mittelwertes (SEM) abgebildet.

Bei der ersten Blutabnahme ergaben sich Werte von $1,0 \pm 0,03$ mg/dl für die SMC-Schweine und $0,9 \pm 0,05$ mg/dl für die Tiere der LIM- Gruppe ($p < 0,05$). Der Referenzbereich für Kreatinin bei Schweinen liegt bei 1,1 bis 1,8 mg/dl. Am Ende der Schockinduktion zeigte sich kein signifikanter Unterschied im Vergleich zum Beginn der Versuchsreihe (SMC: $1,0 \pm 0,05$ mg/dl, LIM: $0,9 \pm 0,06$ mg/dl). Zum Messzeitpunkt 24 Stunden stiegen in beiden Kollektiven die Kreatinin-Werte geringfügig an (SMC: $1,2 \pm 0,07$ mg/dl, LIM: $1,2 \pm 0,16$ mg/dl), blieben jedoch innerhalb des physiologischen Referenzbereichs (1,1 bis 1,8 mg/dl). Auch im weiteren Verlauf waren die Kreatininkonzentrationen auf diesem Niveau. Es kam unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit zu keinem wesentlichen Anstieg. Zur besseren Übersicht sind in Tabelle 4 die Daten der erhobenen Parameter zu den definierten Zeitpunkten aufgeführt. Die Werte wurden zum Teil in der

Ergebnisse

Gemeinschaftsarbeit erstellt. Die Tabelle gibt einen Überblick über die Zeitkinetik. In eckigen Klammern sind die Referenzwerte für Schweine aufgeführt.

Tabelle 4: Serumparameter (Loegters T et al. 2010)

Einheiten: Laktat (mmol/L), BE (mmol/L), Kreatinin (mg/dl), AST (U/L), ALT (U/L), CK (U/L), CK-MB (U/L), Trop T (ng/ml). n.d. = nicht definiert aufgrund fehlender Daten.

Die Fußnoten bedeuten in der Tabelle:

a : signifikanter Unterschied innerhalb einer Gruppe zum angrenzenden vorherigen Zeitpunkt ($p < 0,05$),

b : signifikanter Unterschied zwischen der SMC und LIM-Gruppe zu einem Zeitpunkt ($p < 0,05$).

	0 h		End shock		24 h		48 h		72 h	
	SMC	LIM	SMC	LIM	SMC	LIM	SMC	LIM	SMC	LIM
Creatinine [1.1–1.8]	1.0 ± 0.03	0.9 ± 0.05 ^b	1.0 ± 0.05	0.9 ± 0.06	1.2 ± 0.07 ^a	1.2 ± 0.16	0.9 ± 0.09	1.1 ± 0.18	1.1 ± 0.06	0.8 ± 0.04 ^b
AST [23–54]	56 ± 6.8	40 ± 2.8	37 ± 4 ^a	31 ± 2.91	912 ± 193 ^a	1853 ± 572 ^a	378 ± 120 ^a	854 ± 515 ^a	62 ± 6.8	64 ± 9.7
ALT [50–90]	60 ± 5.68	51.1 ± 3.0	31 ± 3.3 ^a	26 ± 1.28 ^a	203 ± 25.3 ^a	258 ± 33.8 ^a	178 ± 19.2 ^a	213 ± 30.0 ^a	108 ± 5.84 ^a	123 ± 16.5 ^a
CK [251–810]	1643 ± 220	1183 ± 87	982 ± 134 ^a	716 ± 56 ^a	58420 ± 9767 ^a	77653 ± 4960 ^a	15851 ± 4185 ^a	29439 ± 15529 ^a	2338 ± 233	1431 ± 305 ^b
CK-MB	180 ± 20	151 ± 6	95 ± 13 ^a	97 ± 10 ^a	767 ± 84 ^a	969 ± 144 ^a	294 ± 33	467 ± 152 ^a	156 ± 12 ^a	134 ± 31
Troponin T [< 0.05]	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.003	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01 ^a	0.08 ± 0.03	0.15 ± 0.05 ^a	0.02 ± 0.004	0.04 ± 0.021	0.02 ± 0.006	0.01 ± 0.00

4.4 Parameter der Hämodynamik

Während der Versuchsdurchführung wurden folgende hämodynamische Parameter kontinuierlich gemessen:

- Mittlerer arterieller Druck (MAP)
- Herzfrequenz (HF, HR)
- Herzzeitvolumen (HZV, CO)
- Zentral venöse Sauerstoffsättigung (svO₂)
- Mittlerer pulmonalarterieller Druck (MPAP)
- Pulmonalkapillärer Verschlussdruck (PCWP)
- Zentral venöser Druck (ZVD)

Innerhalb dieses Teilprojekts wurden die Parameter PCWP und MPAP erhoben. Die Auswertungen der übrigen hämodynamischen Parameter waren Bestandteil eines

Ergebnisse

anderen Teilprojektes (Witte I,2011). Pathologische Werte weisen auf eine pulmonale Funktionseinschränkung hin. Aus diesem Grund wurden diese beiden Parameter weiterführend analysiert. In der Folge werden die Ergebnisse der genannten Parameter im Gruppenvergleich präsentiert.

4.4.1 Pulmonalkapillärer Verschußdruck (PCWP)

Der Verschußdruck der Pulmonararterie (pulmonary capillary wedge pressure, PCWP) wurde über den Swan-Ganz-Katheter zu festgelegten Zeitpunkten kontinuierlich gemessen. In Abbildung 17 ist die Zeitspanne 0 min. – 270 min. abgebildet. Dies entspricht dem Zeitrahmen von Beginn des Versuches bis zur Beendigung des Schockes und der Reperfusionphase des ersten Versuchstages. Die weiteren relevanten Zeitpunkte (48 und 72 Stunden nach Schock) sind in Tabelle 5 dargestellt und im Text erwähnt.

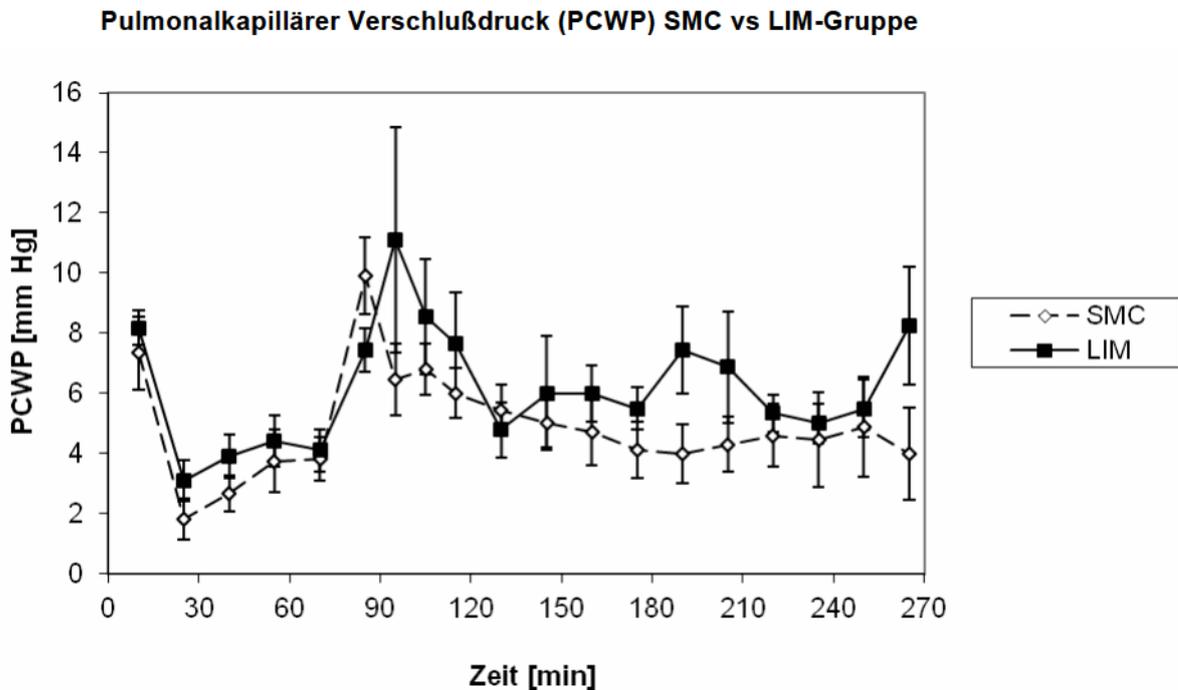


Abb. 16: PCWP Werte der SMC- im Vergleich zur LIM-Gruppe. Es sind die Mittelwerte der SMC-Gruppe und der LIM-Gruppe zu den ausgewählten Zeitpunkten im Vergleich abgebildet. Als Fehlerindikator ist der Standardfehler des arithmetischen Mittelwertes (SEM) dargestellt.

Ergebnisse

Die LIM Schweine sowie die der SMC-Gruppe zeigten einen Ausgangs PCWP von LIM: $8,2 \pm 0,57$ mmHg und SMC: $7,3 \pm 1,23$ mmHg. 25 Minuten nach Versuchsbeginn wiesen die PCWP Drücke in beiden Kollektiven einen Abfall auf (LIM: $3,1 \pm 0,67$ mmHg und SMC: $1,8 \pm 0,68$ mmHg). Dieser Zeitpunkt entsprach dem Ende der schnellen Blutungsphase. Die Reperfusion war zum Zeitpunkt 70 Minuten begonnen. Während der weiteren Schockphase war ein langsamer aber stetiger Anstieg des PCWP in beiden Gruppen vorhanden (60 Minuten: SMC: $3,8 \pm 1,04$ mmHg, LIM: $4,4 \pm 0,86$ mmHg). Nach 70 Minuten wurde in beiden Gruppen die Reperfusion begonnen. Es war hier bei beiden Kollektiven ab diesem Zeitpunkt ein deutlicher Anstieg der PCWP Werte zu beobachten (90 Minuten: SMC: $9,9 \pm 1,29$ mmHg, LIM: $7,4 \pm 0,71$ mmHg). 85 Minuten nach Versuchsbeginn wurde in der LIM-Gruppe die extrakorporale Zirkulation eingeschaltet. Die höchsten PCWP-Werte waren in der LIM-Gruppe nach etwa 95 Minuten nachweisbar (95 Minuten: LIM: $11,1 \pm 3,75$ mmHg, SMC: $6,5 \pm 1,19$ mmHg).

Die extrakorporale Zirkulation mit dem LIM System dauerte bis zur 265. Minute an. Die SMC-Gruppe wurde während dieser Phase ebenfalls bis zur 265. Minute ohne extrakorporale Zirkulation nachbeobachtet. Es zeigte sich in der LIM-Gruppe eine insgesamt undulierende Kurve der PCWP Werte während der LIM Phase mit dem niedrigsten PCWP Wert zum Zeitpunkt 130 Minuten ($4,8 \pm 0,91$ mmHg). Der höchste Wert war der zuletzt gemessene vor Beendigung der LIM Phase (270 min.: $8,3 \pm 1,97$ mmHg). Dieser Wert lag knapp über dem Ausgangsniveau.

In der SMC-Gruppe zeigte sich in der Phase ohne extrakorporales LIM System nach Reperfusion eine in der Tendenz sinkende Kurve. Die pulmonalkapillären Verschluss - Drücke fielen von $6,8 \pm 0,85$ mmHg in der 105. Minute bis auf $4,0 \pm 1,53$ mmHg am Ende der kontinuierlichen Messreihe (270 min.).

Nach 48 Stunden zeigte die SMC-Gruppe weiter abfallende Werte auf $3,8 \pm 0,88$ mmHg. Im 48 Stunden Intervall lag der PCWP der LIM-Gruppe bei $5,2 \pm 0,89$ mmHg. Die Schweine, welche nach 72 Stunden einer erneuten Messreihe unterzogen wurden, wiesen annähernd gleiche PCWP Drücke auf (SMC: $5,9 \pm 1,43$ mmHg, LIM: $5,9 \pm 1,12$ mmHg). Zusammenfassend waren für die pulmonalkapilläre Drücke in beiden Gruppen während der gesamten Beobachtungsperiode keine signifikanten Unterschiede nachweisbar.

Ergebnisse

4.4.2 Mittlerer pulmonal-arterieller Druck (MPAP)

Der mittlere pulmonal arterielle Druck (mean pulmonal arterial pressure, MPAP) wurde ebenfalls über den Swan-Ganz-Katheter kontinuierlich gemessen. Abbildung 17 zeigt die Zeitspanne von Beginn des Versuches bis zur Beendigung des Schockes und der Reperfusionphase (0 min. – 270 min.) . Die weiteren relevanten Zeitpunkte (48 und 72 Stunden) sind in Tabelle 5 aufgeführt und im Text erwähnt.

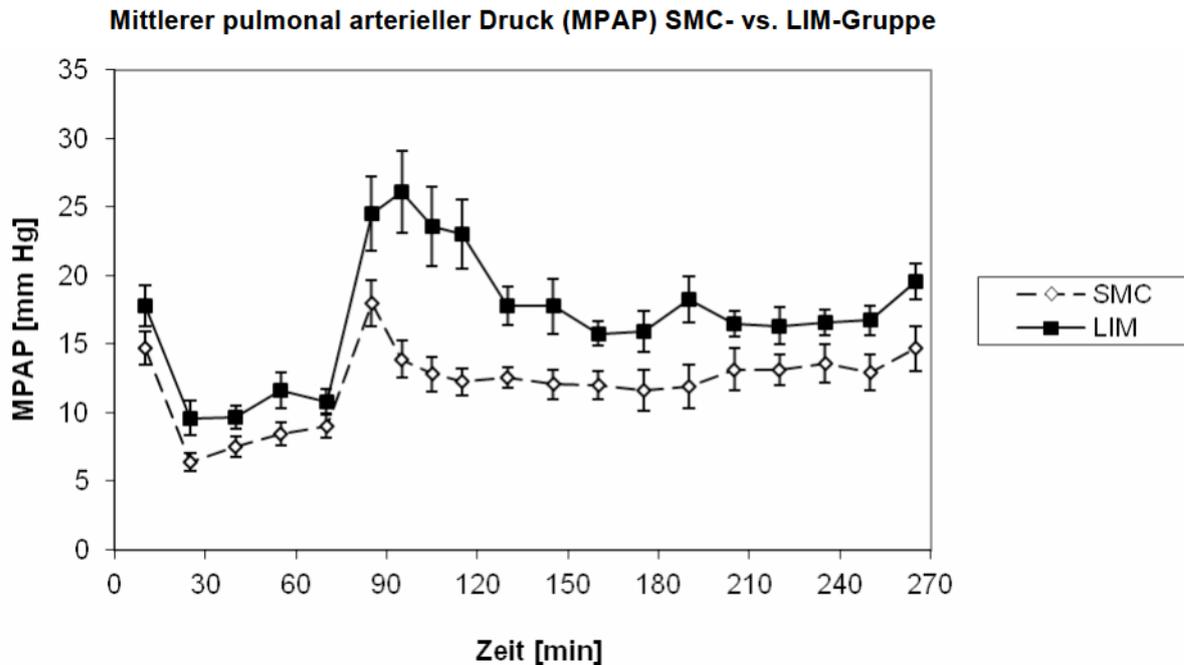


Abb. 17: MPAP Werte der SMC- im Vergleich zur LIM-Gruppe. Es sind die Mittelwerte der SMC-Gruppe und der LIM-Gruppe zu den ausgewählten Zeitpunkten im Vergleich abgebildet. Als Fehlerindikator ist der Standardfehler des arithmetischen Mittelwertes (SEM) dargestellt

Der Ausgangswert des MPAP betrug in der LIM-Gruppe $17,8 \pm 1,49$ mmHg in der SMC-Gruppe $14,8 \pm 1,22$ mmHg. Zum Zeitpunkt 25 Minuten zeigten die Messwerte beider Kollektive einen deutlichen Abfall auf (LIM: $9,6 \pm 1,26$ mmHg; SMC: $6,4 \pm 0,68$ mmHg). Dieser Zeitpunkt spiegelte die Phase nach Beendigung der 15-minütigen „Entblutung“ vor der Reperfusion wider. Während der anschließenden Schockphase konnte man in beiden Gruppen einen langsamen Anstieg der MPAP Werte verzeichnen (LIM: $11,7 \pm 1,32$ mmHg, SMC: $8,4 \pm 0,84$ mmHg).

Ab der 70. Minute folgte die Reperfusionphase. Dies spiegelte sich in beiden Kollektiven in einem deutlichen Anstieg des MPAP wider. Der MPAP stieg kontinuierlich an und erreicht ab der 90. Minute jeweils einen Wert über dem

Ergebnisse

Ausgangsniveau liegend hinaus (LIM 70. Minute: $10,8 \pm 0,88$ mmHg, SMC 70. Minute: $9,0 \pm 0,83$ mmHg; LIM 90. Minute: $24,5 \pm 2,68$ mmHg, SMC 90. Minute: $18,0 \pm 1,66$ mmHg). Die Reperfusion dauerte 15 Minuten. Hiernach folgte in der LIM-Gruppe der Anschluss des extrakorporalen LIM Systems, in der SMC-Gruppe die Nachbeobachtung ohne LIM.

Nach Reperfusion zeigte sich in beiden Gruppen ein Abfall der MPAP-Werte. Hiernach erreichten die Werte beider Gruppen das Ausgangsniveau. Zum Zeitpunkt 48 Stunden waren in der SMC- und LIM-Gruppe signifikant höhere MPAP-Werte nachweisbar als zu Beginn des Versuchs (SMC: $7,3 \pm 1,01$ mmHg, LIM: $10,9 \pm 1,10$; $p < 0,05$). Die Werte der LIM-Gruppe lagen höher als die der SMC-Gruppe ($p < 0,05$). Nach 72 Stunden war in beiden Gruppen ein weiterer Anstieg nachweisbar (SMC: $12,2 \pm 2,10$, mmHg, LIM: $13,7 \pm 1,05$ mmHg). In Tabelle 5 sind die Datenverläufe der PCWP und MPAP Werte dargelegt. Die Werte wurden zum Teil in der Gemeinschaftsarbeit erstellt. Die Tabelle gibt einen Überblick über die Zeitkinetik. In eckigen Klammern sind die Einheiten aufgeführt.

Tabelle 5: Hämodynamische Parameter im Zeitverlauf (Loegters T et al. 2010)

	0 h		48 h		72 h	
	SMC	LIM	SMC	LIM	SMC	LIM
PCWP [mmHg]	7.3 ± 1.23	8.2 ± 0.57	3.8 ± 0.88	5.2 ± 0.89	5.9 ± 1.43	5.9 ± 1.12
MPAP [mmHg]	14.8 ± 1.22	17.8 ± 1.49	7.3 ± 1.01^a	10.9 ± 1.10^{ab}	12.2 ± 2.10^a	13.7 ± 1.05^a

4.5 Histologie

Die aufgearbeiteten Hämatoxylin-Eosin gefärbten Organschnitte wurden durch mich, mit Unterstützung von Herrn PD Dr. med. Wolfram Müller, Pathologie Starnberg und Herrn Dr. med. Jankowiak, Institut für Pathologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, als unabhängige Pathologen hinsichtlich schockspezifischer Kriterien begutachtet. Die jeweiligen Organschnitte wurden in drei Gruppen zur Beurteilung eingeteilt: Eine Kontroll -Gruppe (Versuchstiere ohne Schock), die LIM-Gruppe (Versuchstiere mit Schock und anschließender LIM Behandlung) sowie die SMC-Gruppe (SMC-Gruppe = Schock ohne LIM). Die Schnittbeurteilung folgt

Ergebnisse

allgemeingültigen pathologischen Untersuchungskriterien mit dem Hervorheben von Organauffälligkeiten. Die Analysen erfolgten „blind“, das heißt ohne Kenntnis der Gruppenzugehörigkeit der Probe zum Zeitpunkt der Analyse.

In Abbildung 18 sind repräsentativ histologische Schnitte von Lunge, Herz, Leber, Niere und Darm gezeigt. Es wurden die Histologieschnitte zur Darstellung gewählt welche mikroskopische Auffälligkeiten aufwiesen.

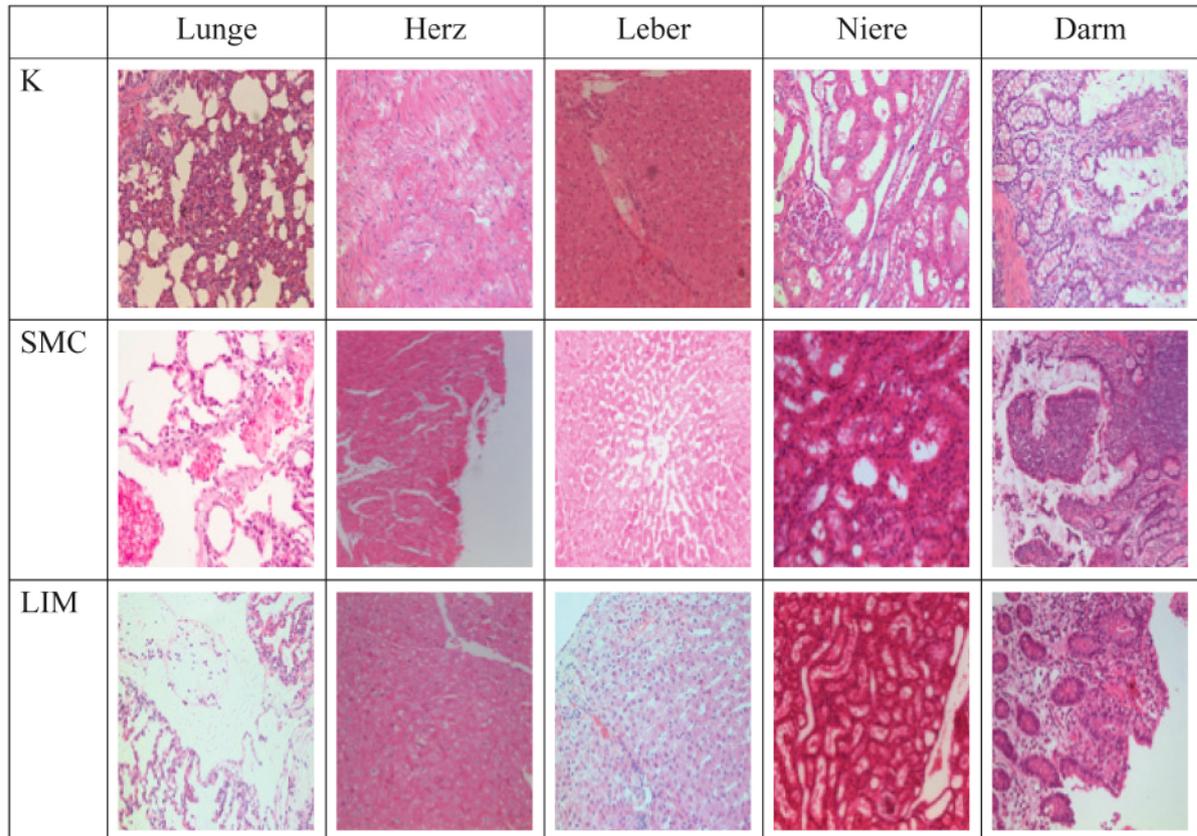


Abb. 18: Repräsentative, histologische Schnitte von Lunge, Herz, Niere, Leber und Darm, mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt, zugeordnet zur Kontroll-, LIM- und SMC-Gruppe. Die Schnitte wurden bei der SMC- und LIM-Gruppe nach jeweils 48 bzw. 72 Stunden nach Schock entnommen. Die Organe der Kontrolltiere wurden direkt entnommen. Die Originalvergrößerungen sind 100-, 200- oder 400fach (X10, X20, X40).

In den begutachteten Lungengewebeschnitten sah man bei den Schnitten der SMC- sowie der LIM-Gruppe vereinzelt Lungengewebe mit Fibrinthromben in Blutgefäßen sowie Lungengewebe mit intraalveolärer Fibrinexsudation im Sinne beginnender "hyaliner Membranen". Zwischen der SMC- und der LIM-Gruppe konnten keine Unterschiede festgestellt werden. Die Lungengewebeschnitte der Kontrollgruppe zeigten hingegen eine vermehrte Anzahl intraalveolärer Erythrozyten.

Ergebnisse

Aufgearbeitete Leberschnitte der SMC-Gruppe wiesen vereinzelt Leberläppchen mit erweiterter Zentralvene und deutlich verschmälerte Leberzellplatten mit leichter Blutstauung auf. "Schocknekrosen" als typische Zeichen des Lebergewebschadens ließen sich in der Leber in der LIM und der SMC-Gruppe nicht nachweisen. Insgesamt zeigen die Tiere der SMC-Gruppe aber eine vermehrte granulozytäre Infiltration in der Lunge im Vergleich zu den Tieren der Kontrollgruppe (Ott A, 2011).

Bei der Auswertung der Schnitte von Herz, Niere und Darm wurden sowohl in der LIM- als auch der SMC-Gruppe zu den Zeitpunkten 48 und 72 Stunden keine histologischen Hinweise auf eine Gewebeschädigung gefunden.

Zusammenfassend wurden in den befundeten Schnitten der LIM- und SMC-Gruppe nur vereinzelt unspezifische Gewebeschädigungen nachgewiesen. Eindeutige Schockfolgen im Sinne von Gewebenekrosen konnten weder in der SMC-Gruppe noch in der LIM-Gruppe unabhängig der Organentität nachgewiesen werden. Die oben genannten vereinzelt histologischen Auffälligkeiten waren nicht reproduzierbar und zeigten keine Gruppenanhäufung.

5 Diskussion

5.1 Überblick

Die Inaktivierung neutrophiler Granulozyten durch das LIM stellt einen Therapieansatz zur Reduktion einer überschießenden Immunantwort dar (Scholz M et al. 2005). Innerhalb dieses Gesamtprojekts galt es zunächst ein hämorrhagisches Schockmodell im Großtier zu etablieren und im Anschluss zu überprüfen, ob das LIM einen Effekt auf posthämorrhagische Veränderungen hat. Die Arbeitsgruppe bestand aus mehreren Doktoranden. Jedem Doktorand unserer Arbeitsgruppe waren unterschiedliche Fragestellungen zugeteilt, welche die Effekte des LIM-Systems auf die Folgen eines standardisierten, hämorrhagischen Schocks im Großtiermodell darstellen sollte (siehe Seite 33). Schwerpunkt des hier vorliegenden Teilprojekts war es, die potentiellen Auswirkungen des hämorrhagischen Schocks auf das Gewebe von Leber, Lunge, Darm, Herz und Niere und einen möglichen Einfluss des LIM hierauf zu untersuchen. Zur Abschätzung der Gewebeschädigung wurden histologische Analysen durchgeführt, sowie laborchemische und hämodynamische Surrogatparameter für eine Organschädigung erhoben und interpretiert.

Ziel war es, zu erforschen ob der hämorrhagische Schock zu einer schockspezifischen Gewebeveränderung führt und ob sich durch den Einsatz des LIM Systems eine Verbesserung der möglichen Schockfolgen auf Organebene zeigen lässt.

5.2 LIM beim hämorrhagischen Schock

Als Folge eines hämorrhagischen Schocks kommt es zu einer Aktivierung des Immunsystems, im Rahmen dessen neutrophile Granulozyten eine wichtige Rolle spielen (Siegenthaler W et al. 2006). Neutrophile Granulozyten werden aus dem Knochenmark rekrutiert, aktiviert und besitzen in diesen Fällen eine verlängerte Überlebenszeit (Siegenthaler W et al. 2006). Die in die schockabhängigen Organe migrierenden aktivierten polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten können endotheliale Dysfunktionen mit Ödembildung und Gewebedestruktion durch die

Diskussion

Bildung von Sauerstoffradikalen und die Sekretion proteolytischer Enzyme wie zum Beispiel Elastase hervorrufen (Scholz M et al. 2004). Hiervon besonders betroffen sind Lunge, Leber und Herz (Fan J et al. 2007). Die Lebensspanne von aktivierten polymorphkernigen Granulozyten (PMN) ist unter physiologischen Bedingungen auf 4-10 Stunden in der Blutstrombahn limitiert (Bein T et al. 2010). Emigrieren die PMN in das Gewebe, so überleben sie dort einige Tage (Bein T et al. 2010). Ein verlängertes Überleben beziehungsweise eine Überaktivierung, wie es nach hämorrhagischem Schock der Fall ist, kann zur Gewebeschädigung führen (Albelda SM et al. 1994).

Es wurden in der Vergangenheit viele Anstrengungen unternommen, um die durch überstimulierte Leukozyten vermittelten Pathogenitäten in Schach zu halten. Darunter fallen Ansätze wie zum Beispiel die Applikation von Steroiden, Antioxidantien oder monoklonalen Antikörpern (Abdel-Rahman U et al. 2007; Scholz M et al. 2002; De Vries et al. 2003). All diese Interventionen erreichten jedoch keinen bedeutenden Durchbruch (Scholz M et al. 2005, 2002).

Einen weiteren Ansatz stellt die Stimulation von Fas (CD95) auf aktivierten Neutrophilen dar. In bereits durchgeführten Studien erwies sich dies als ein effektives Mittel, um unerwünschte Leukozyten-Aktivitäten im Sinne einer *Early-Goal directed Therapy* zu verringern (Abdel Rahman U et al. 2007; Salmen S et al. 2004; Ayub K et al. 2004; Peter ME et al. 2007; Cinatl J et al. 2000; Paunel-Görgülü A et al. 2009). Die theoretische Annäherung für die Entwicklung des LIM war der im *in vitro* Versuch gezeigte Effekt, dass die Interaktion von FAS-L mit Fas auf aktivierten Leukozyten zur Apoptose führt (Rowe PM, 1996; Cox G et al. 1995). Das LIM ermöglicht mit seiner Fas stimulierenden Oberfläche die Inaktivierung von Neutrophilen nach nur kurzem Kontakt mit dem LIM Polyurethanschaum. Die Inaktivierung ereignet sich innerhalb von Minuten und somit können die in Apoptose versetzten PMN sofort von Makrophagen erkannt und eliminiert werden (Scholz M et al. 2005).

Als ein Vorteil des LIM wird aufgeführt, dass es in extrakorporale Kreisläufe integriert werden kann und somit keine systemische Applikation von immunmodulierenden Substanzen erforderlich ist. Das LIM System konnte in vorangegangenen Studien z.B. in der Herz-Thorax-Chirurgie bereits erfolgreich getestet werden (Scholz M et al. 2002). Neben der bereits durchgeführten

Diskussion

Integration des LIM in den extrakorporalen Kreislauf bei einer Herz-Lungen-Maschine wäre der Einsatz auch bei anderen Krankheitsentitäten möglich, bei denen eine ausgeprägte bzw. unverhältnismäßige inflammatorische Antwort vorliegt.

Auf der Basis dessen sollte in dieser Arbeit die Wirksamkeit des LIM für die inflammatorische Antwort nach einem hämorrhagischen Schock geprüft werden. Für einen experimentellen Ansatz bot sich der hämorrhagische Schock unter anderem deshalb an, da, wie bei der Herz-Lungen-Maschine, der Beginn des inflammatorischen Reizes klar definiert ist. Neutrophile Granulozyten erfahren ihre Überaktivierung vor allem in der sehr frühen Phase einer inflammatorischen Reaktion nach einem hämorrhagischen Schock (Siegenthaler W et al. 2006). Bei anderen Krankheitsbildern, die sich für eine immunmodulierende Therapie anbieten würden, z.B. Autoimmunerkrankungen, entwickelt sich die Krankheit mehrheitlich sukzessive mit unterschiedlicher Bedeutung immunkompetenter Zellen zu verschiedenen Zeitpunkten (Siegenthaler W et al. 2006). Des Weiteren spielt ein geeigneter Zeitpunkt für das Herausfiltern von neutrophilen Granulozyten in Bezug auf die Phase der Immunantwort eine bedeutende Rolle. Die Fähigkeit der neutrophilen Granulozyten zur antibakteriellen phagozytischen Tätigkeit ist als essentiell in der physiologischen Bakterienbekämpfung anzusehen (Maier B et al. 2007; Sato H et al. 2007). Bei einer frühen Anwendung des LIM sind daher die höchsten Effekte zu erwarten. Eine zu späte oder nicht zeitgerechte Anwendung des LIM könnte über die Inhibition der neutrophilen Granulozyten zu einer verminderten Abwehrfähigkeit des Organismus gegenüber pathogenen Keimen führen und die Entwicklung einer Sepsis eventuell sogar begünstigen. Liegt das klinische Bild einer systemischen Infektion vor, besteht daher eine Kontraindikation für den Einsatz des LIM.

Für die Anwendung des LIM nach einem hämorrhagischen Schock im klinischen Alltag gilt es zudem zu bedenken, dass der Einsatz des LIM unmittelbar im Anschluss an eine Reperfusion mit Kompensation des Schocks den Einbau eines extrakorporalen Kreislaufs erfordert. Auch wenn die Volumenverschiebungen beim Einbau eines extrakorporalen Kreislaufs bei hämodynamisch stabilen Patienten vertretbar wären, könnte die Anwendung bei diesen kritisch kranken Patienten mit

Diskussion

einer hämodynamischen Stabilität auf geringem Niveau zu einer erneuten Kreislaufdekompensation beitragen.

Denkbar wäre hingegen die Integration des LIM in bestehende extrakorporale Kreisläufe. Anbieten würde sich dies zum Beispiel bei der Hämodialyse. Indikationen für die Anwendung einer Hämodialyse nach Trauma stellen unter anderem das akute Nierenversagen und eine Rhabdomyolyse dar (Striebel HW, 2008). Eine Rhabdomyolyse ist die Zerstörung bzw. der Abbau der quergestreiften Muskulatur mit folglichem Abbau der Muskelzellen (Huerta-Alardín AL et al. 2005). Während eine Rhabdomyolyse früh nach Trauma präsent ist, wäre zu diesem frühen Zeitpunkt der Einsatz eines LIM eventuell möglich. Das akute Nierenversagen stellt eine der wesentlichen Folgeschäden nach einem hämorrhagischen Schock oder schwerem Trauma dar und manifestiert sich häufig erst vier bis fünf Tage nach dem Ereignis oder aber als Zeichen einer Organmanifestation innerhalb der Sepsis (Xavier B et al. 2009). In diesen Situationen ist der Einsatz des LIM eher nicht zu empfehlen.

Potentielle Risiken des LIM stellen unter anderem die Einschwemmung von IgM Antikörpern dar, die sich vom Schwamm lösen und toxische Effekte im Körper haben könnten. Die systemische Applikation von anti-Fas zeigte schwere Nebenwirkungen wie beispielsweise toxische Leberschäden und Lungenfibrose (Chang B et al. 2003) und ist daher nicht möglich. Untersuchungen hierzu konnten aber zeigen, dass eine feste kovalente Bindung der IgM Antikörper am Schwamm beim LIM System besteht und keine relevanten Anteile an Antikörpern nach der LIM Anwendung im Körper nachweisbar sind (Scholz M et al. 2005). Der hämorrhagische Schock stellt, angesichts des klar definierten Beginns des inflammatorischen Reizes, ein passendes Krankheitsbild zur experimentellen Untersuchung der Wirksamkeit des LIM als selektiven Immunmodulator dar. Gleichwohl wären bis zur Umsetzung im klinischen Alltag relevante Erkenntnisse über den Anwendungszeitpunkt und dessen potentielle Auswirkung für die Patienten notwendig.

5.3 Einfluß auf die posthämorrhagische Gewebeschädigung

Als Grundlage für die ausgewählten Organe dienten vorausgegangene Studien welche die Organe Lunge, Leber, Herz, Niere und Darm als schockanfällig

bezeichnen (Thijs LG et al. 1996; Aldridge AJ 2002; Bratton DL et al. 2011; Weiss SJ, 1982; Roesner JP et al. 2009; Böcker W et al. 2008; Engler RL et al. 1983).

5.3.1 Lunge

Die im klinischen Alltag besonders im Rahmen der Intensivmedizin bekannte Schocklunge wird international als *Acute Respiratory Distress Syndrome* (ARDS) bezeichnet (Ware LB et al. 2000). Das ARDS ist mit einer Überaktivierung neutrophiler Granulozyten und deren Sauerstoffradikal-Freisetzung in Verbindung zu setzen (Stüber F et al. 2002), die zu einer Gewebeschädigung führen können. Diese interstitiellen Lungenveränderungen sind definiert als akute respiratorische Insuffizienz, basierend auf dem Boden einer akuten, diffusen Lungenschädigung, welche durch eine erhöhte pulmonalkapilläre Membranpermeabilität mit einem proteinreichen Lungenödem und nachfolgender Neigung zur Fibrosierung gekennzeichnet ist (Ware LB et al. 2000). Das akute Lungenversagen tritt innerhalb von wenigen Stunden bis zu 3 Tagen nach einem hierfür typisch auslösenden Ereignis auf. Eines der Hauptauslöser für diese Folgen ist das Schockgeschehen (Ashbaugh DG et al. 1967; Lorraine B et al. 2000; Bernard G et al. 1994).

Die histologischen Kriterien der Schocklunge sind Schockstadienabhängig. Zunächst werden eiweißreiche, interstitielle Ödeme hilusnah, mit späterer kontinuierlicher Ausbreitung in die Peripherie beobachtet (Heinzeller T et al. 2001). Nach ca. 24 Stunden treten Endothelzellschäden mit Adhäsion von Granulozyten und Monozyten sowie einzelnen Mikrothromben auf. Den Kapillarschäden folgen bei weiter anhaltender Minderperfusion Nekrosen des Alveolarepithels der Typ I Zellen sowie später der Typ II Zellen (Heinzeller T et al. 2001). Hierdurch kommt es zu einem Verlust des antiatektase Faktors, wodurch es zu einer erhöhten alveolären Oberflächenspannung mit Lungenödem kommt. Aufgrund der im Schock auftretenden Koagulopathie kann das Lungenödem als ein hämorrhagisches Lungenödem imponieren. Tritt nun Fibrin ins Interstitium bilden sich hyaline Membranen mit Verdickung der Alveolarsepten und folglich Lungenfibrose mit chronisch respiratorischer Insuffizienz aus (Bergentz SE et al. 1971; Böcker W et al. 2008). In vorangegangenen experimentellen Studien wurde festgestellt, dass Thrombozyten nach einem Trauma in der Lunge stärker angehäuft werden, was möglicherweise die Diffusions- sowie die Perfusionskapazität der Lunge beeinflusst. Dies ist wahrscheinlich Folge einer Freisetzung verschiedener vasoaktiver

Diskussion

Substanzen aus angehäuften Thrombozyten (Bergentz SE et al. 1971; Böcker W et al. 2008). Zwar konnte in dem vorliegenden Schockmodell im Lungengewebe als Zeichen eines Gewebeschadens nach Hämorrhagie vereinzelt Fibrinthromben in Blutgefäßen sowie Lungengewebe mit intraalveolärer Fibrinexsudation im Sinne beginnender "hyaliner Membranen" aufgezeigt werden. Diese Auffälligkeiten waren jedoch nicht in allen Proben aufzufinden. Eine quantitative Analyse war nicht möglich. Zudem gab es keine Unterschiede zwischen der LIM- und SMC-Gruppe.

Ein möglicher Erklärungsansatz für die nicht nachweisbare Gewebeschädigung wäre zum einen ein zu geringes Ausmaß der Schockschwere oder -tiefe. Die „Schocktiefe“ wurde in diesem Modell über die entnommene Blutmenge und den mittleren arteriellen Druck (MAP) definiert. Im Mittel wurden ca. 550 ml Blut (Schock ohne LIM = SMC-Gruppe 555 +/- 34 ml, Schock mit LIM = LIM-Gruppe 616 +/- 26 ml) entnommen. Der MAP wurde in der Blutungsphase versucht auf 35 ± 5 mmHg zu senken und während der Schockphase auf 40 ± 5 mmHg zu halten. Im Rahmen der Modelletablierung hatte sich jedoch gezeigt, dass geringere MAP Werte mit einer deutlich höheren Mortalität einhergingen und die Tiere die Schockphase nicht überlebten. Eine längere Schockphase, das heißt länger als die von uns gewählte Dauer von insgesamt 60 Minuten, könnte eine Alternative zur Erhöhung der Belastung für das Tier sein. Die Abschätzung der Schocktiefe auf der Basis isoliert des MAP zu betrachten wird zum Teil kritisch gesehen. Einige Autoren empfehlen vielmehr die Beurteilung einer Schockschwere anhand der Parameter Sauerstoffschuld und des Säure-Basen Haushalts (Rixen D et al. 2001). Im vorliegenden Modell waren für den *Base Excess* während der Schockphase negative Werte nachweisbar (Witte I, 2011; Loegters T et al. 2010). Auch für Laktat konnten Anstiege nachgewiesen werden, jedoch nicht auf die bei schweren Schockphasen zu erwartenden hohen Werte (Witte I, 2011; Loegters T et al. 2010). Die gewählte Schockform führte in unserem Modell nicht zu einem nachhaltigen Gewebeschaden in der Lunge. Der Nachweis einer vermehrten Rekrutierung neutrophiler Granulozyten in das Lungengewebe (Ott A, 2011) kann jedoch als deutlicher Indikator für die systemische Beteiligung der Lunge als Folge des hämorrhagischen Schocks gewertet werden.

Trotz einer fehlenden histologisch nachweisbaren Gewebeschädigung wiesen die hämodynamischen Parameter auf eine pulmonale Affektion hin. Zur Beurteilung

Diskussion

einer posthämorrhagischen Gewebeschädigung wurden in dieser Arbeit die Kurvenverläufe und Auswertungen der Parameter PCWP und MPAP als Parameter für die Lungenfunktion untersucht. Die Ableitung des mittleren pulmonalarteriellen Druckes (MPAP) erfolgte über den Pulmonalarterienkatheter. Der gemessene Druck entspricht hierbei dem Druck in der A. pulmonalis bei entblocktem Ballon. Es gilt, dass niedrige MPAP Werte eher für eine Hypovolämie und hohe MPAP Werte für eine Linksherzbelastung oder Lungenembolie sprechen können (Berchtold R et al. 2008). Die MPAP Kurve nach Beendigung des Schockes spiegelte den physiologischen Verlauf nach Hämorrhagie wieder. Durch das fehlende intravasale Volumen zeigte sich in beiden Kollektiven ein deutlich erniedrigter mittlerer pulmonalarterieller Druck. Ähnlich der PCWP Werte stiegen die MPAP Werte der LIM- sowie der SMC-Gruppe in der Phase nach Schock vor Reperfusion langsam wieder an. Dies könnte mit den oben beschriebenen physiologischen Mechanismen zur Gegenregulation nach Schock erklärt werden. Sobald die Reperfusionsphase begann, stieg in beiden Gruppen der MPAP stetig an und erreichte ab der 90. Minute Werte oberhalb des Ausgangsniveau. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte die rasche Reperfusion sein, welche sich mit den physiologischen Mechanismen der Gegenregulation addiert und somit zu einem mittleren pulmonalarteriellen Druck führt, welcher deutlich über der für die Gruppen gemessenen „Norm“ liegt.

Die MPAP Werte der SMC-Gruppe glichen sich zum Zeitpunkt 270 Minuten ihren Ausgangswerten an. Die MPAP Werte der LIM Schweine wiesen einen stetig höheren Wert im Vergleich auf. Die in der LIM-Gruppe hohen MPAP-Werte nach der Reperfusionsphase könnten zum einen durch das LIM bedingt sein, zum anderen könnte eine unterschiedliche Menge an reperfundierter Flüssigkeit einen Einfluß auf den MPAP gehabt haben. Zusammenfassend ist festzustellen, dass lediglich zum Zeitpunkt 48 Stunden nach Schock signifikant höhere MPAP Werte in der LIM-Gruppe nachweisbar waren. Dies könnte für eine höhere Linksherzbelastung sprechen. Da nach 72 Stunden die Werte in beiden Gruppen wieder auf einem Niveau lagen ist jedoch nicht von einem nachhaltigen LIM vermittelten Gewebeschaden in Lunge oder Herz auszugehen.

Der pulmonalkapilläre Verschlussdruck dient der Abschätzung der Vorlast des linken Ventrikels (Mewis C et al. 2006). Wird der Ballon des Katheters geblockt so

Diskussion

kompromittiert man den Blutfluß im Lungenkreislauf für einen kurzen Moment. Der dann ableitbare Druck entspricht somit dem enddiastolischen Druck im linken Vorhof (Striebel HW, 2010). Da bei den Schweinen von kardial und pulmonal nicht vorbelasteten Versuchstieren auszugehen war, sind Störfaktoren wie Linksherzinsuffizienz, globale Herzinsuffizienz und hypertensive Lungenerkrankung sehr unwahrscheinlich. Die korrekte Lage des Katheters wurde durch kontinuierliches EKG Monitoring bei Anlage durch die *Wedge*-Position überprüft. Da es auch in der Humanmedizin für den PCWP keine absoluten Grenzwerte gibt, soll im Folgenden der Verlauf diskutiert werden. Von den gemessenen PCWP Drücken lassen sich bei kontinuierlichem Monitoring Rückschlüsse auf die kardiale Funktion ziehen (Heck M et al. 2010).

Während der Versuchsreihe sanken die PCWP Drücke nach der hämorrhagischen Schockphase von LIM: $8,2 \pm 0,57$ mmHg und SMC: $7,3 \pm 1,23$ mmHg auf LIM: $3,1 \pm 0,67$ mmHg und SMC: $1,8 \pm 0,68$ mmHg. Dies ist durch die im Rahmen der Hypovolämie bedingten Regression des enddiastolischen Füllungsdruckes zu erklären. Aufgrund der Hämorrhagie vor Reperfusion fehlt dem Organismus das nötige Volumen um den vorher gemessenen enddiastolischen linksventrikulären Füllungsdruck aufrechtzuerhalten (Bundgaard-Nielsen M et al. 2010; Berchtold R et al. 2008). Konsekutiv zeigten sich hier erniedrigte PCWP Werte beider Gruppen. Zwischen der 30. Minute bis zur 70. Minute spiegelt der PCWP Kurvenverlauf die Zeitspanne nach Beendigung des Schockes vor Reperfusion wider. Der langsame aber stetige Anstieg des PCWP's könnte ein Hinweis auf in beiden Gruppen greifende physiologische Kompensationsmechanismen nach Schock sein. In dieser Zeitspanne liegt der PCWP Wert der SMC- sowie der LIM-Gruppe weiterhin unterhalb des Ausgangswertes, was durch ein suffizientes Schockgeschehen zu erklären wäre. Kompensationsmechnismen in der Akutphase sind die Aktivierung des sympathischen Nervensystems sowie renale, neurohumorale und lokale vasoregulatorische Mechanismen (Janssen U et al. 2004). Ziel dessen ist die Aufrechterhaltung und Wiederherstellung eines ausreichenden Herzzeitvolumens (Janssens U et al. 2004). Die PCWP Kurve ist in Einklang zu bringen mit den gemessenen Werten der Herzfrequenz sowie des Herzzeitvolumens (Witte I, 2010). Nach „Entblutung“ reagieren alle Schweine mit Tachykardie und mit einem Absinken

Diskussion

des Herzzeitvolumens was wiederum einen verminderten enddiastolischen Füllungsdruck und damit einen geminderten PCWP Wert erklärt (Witte I, 2010).

Zu Beginn der Reperfusion stiegen die PCWP Werte in beiden Gruppen wieder an, wobei die SMC-Gruppe vor Beginn der LIM Phase scheinbar eine schnellere „Erholung“ der hämodynamischen Situation erfuhr. Mit Beginn der LIM Phase zeigt sich in der LIM-Gruppe ein undulierender Kurvenverlauf wohingegen das SMC Kollektiv mit den PCWP Werten stetig bis zum Ende des ersten Versuchstages sank. Der inkonstante PCWP Kurvenverlauf könnte durch den Einsatz des LIM Systems erklärt werden. Hier ist das Augenmerk nicht auf die Leukozytenfiltration sondern auf die Funktionsweise des LIM Systems zu legen. Studien zeigen, dass der Einsatz eines extrakorporalen Systems in Form einer Dialysepumpe Einfluss auf den Verlauf des PCWP's nehmen kann (Murasawa T et al. 1989).

48 Stunden sowie 72 Stunden nach Versuchsbeginn lagen die PCWP Werte beider Kollektive jeweils unter denen des Startniveau. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ließ sich nicht feststellen. Eine mögliche Erklärung hierfür wäre die Tatsache, dass die physiologischen Kompensationsmechanismen die Folgen des Schockes nicht gänzlich auffangen können und dass eine Normalisierung der Werte über die 72 Stunden Grenze hinaus dauert. Ein positiver Einfluss durch das LIM System kann somit anhand des PCWP Verlaufes nicht festgestellt werden. Durch den in der LIM-Gruppe signifikant höheren MAP Wert nach 72 Stunden lässt sich eine mögliche Verbesserung der kardialen Funktion durch das LIM System in Erwägung ziehen (Witte I, 2010). Es ist insgesamt fraglich, ob isolierte Parameter wie z.B. PCWP oder MAP geeignete Messgrößen zur Detektion von LIM-Effekten darstellen. Mögliche LIM-Effekte auf die Hämodynamik sind unter Berücksichtigung aller hämodynamischen Parameter in der Gesamtschau zu evaluieren.

Die Parameter MPAP und PCWP sind im unmittelbaren Kontext zur Herzfunktion zu sehen. Daher wird im Folgenden darauf eingegangen.

5.3.2 Herz

Nach einem hämorrhagischem Schock lassen sich am Herzmuskelgewebe Myokardiolyse, subendokardiale Blutungen sowie Myokardinfarkt - ähnliche Veränderungen detektieren (Böcker W et al. 2008; Remmele W 1999). Selten ist die

Diskussion

nicht bakterielle Schockendokarditis zu beobachten (Böcker W et al. 2008; Remmele W 1999). In den hier durchgeführten histologischen Analysen konnten keine wesentlichen Schädigungen nachgewiesen werden. Wie für die Lunge lassen sich diese fehlenden Gewebeschädigungen durch das Ausmaß des Blutverlustes bzw. der Schockschwere/tiefe erklären. Es existieren eine Vielzahl an hämodynamischen Kompensationsmechanismen, die zu einer Zentralisation des Kreislaufs führen. Das Herz ist daher nach einem Schock das Organ, welches auch bei hohen Blutverlusten noch eine vergleichsweise gute Sauerstoffversorgung erhält.

Als Surrogatparameter für eine Sauerstoffunterversorgung oder Ischämie der Herzmuskeln stehen die Parameter CK, CK-MB und Troponin-T zur Verfügung.

Betrachtet man den Verlauf der Creatin Kinase vorerst isoliert, so sieht man, dass nach 72 Stunden niedrigere CK-Werte in der LIM-Gruppe (1431 ± 305 U/l) verglichen mit den Werten des SMC Kollektives (2338 ± 233 U/l) vorlagen. In vorherigen Untersuchungen des LIM-Systems in der Herz-Thorax Chirurgie konnte gezeigt werden, dass der Einsatz des LIM-Systems ein effektives Instrument ist, um die durch überaktivierte neutrophile Granulozyten vermittelte Schädigung, unter anderem des Myokardgewebes, zu kontrollieren (Abdel Rahman U et al. 2007).

Hieraus könnte man auch in dieser Versuchsreihe den Schluss ziehen, dass die neutrophilen Granulozyten durch die LIM-Behandlung die Fähigkeit zur Gewebetransmigration verlieren und somit eine Akkumulation verhindert wird. Durch verminderte Anhäufung im Gewebe, sollte auch die durch die PMN Granulozyten vermittelte Beeinträchtigung der Gewebeintegrität verhindert werden.

Ein weiterer Hinweis auf eine verbesserte Organfunktion, in diesem Fall eine verbesserte Myokardfunktion, waren die in der LIM-Gruppe gemessenen höheren svO₂ Werte. Besonders 72 Stunden nach Schockgeschehen ist dieser Effekt zu beobachten (Witte I, 2011). In diesem Zusammenhang ist auch das durch Herrn Witte untersuchte Herzminutenvolumen zu betrachten. Das Herzminutenvolumen hatte sich ebenfalls 72 Stunden nach Schock in der LIM-Gruppe annähernd dem Ausgangswert angeglichen, wohingegen in der SMC-Gruppe das Herzminutenvolumen noch deutlich erniedrigt war (Witte I, 2011). Bringt man diese drei Komponenten, CK, Herzminutenvolumen und svO₂ in Einklang, so könnte dies

Diskussion

ein Hinweis für eine bessere kardiale Funktion in der LIM-Gruppe 72 Stunden nach Einsatz des LIM-Systems sein.

Die Creatin Kinase Erhöhung stellt jedoch lediglich einen Hinweis auf eine Gewebeschädigung dar. Die Entität des Gewebes lässt sich nur durch Bestimmung der Isoenzyme herausfinden. Es könnte denkbar sein, dass eine CK-Erhöpfung, wie sie in dieser Versuchsreihe besonders nach 24 Stunden auftrat, durch die Folgen des Schockes, im Sinne einer Stressreaktion sowie durch die forcierte postoperative Blutabnahme und somit bedingte Stresssituation zu erklären ist (Stubhan M, 2008; Kixmüller M, 2004). Auf der anderen Seite könnte die Tatsache, dass die CK-Werte 72 Stunden nach Schock in der LIM-Gruppe signifikant niedriger waren, darauf zurückzuführen sein, dass der Einsatz des LIM-Systems tatsächlich der ausschlaggebende Faktor für dieses Ergebnis ist, da die Schweine ansonsten den exakt selben Bedingungen ausgesetzt waren.

Die Creatin Kinase (CK) ist ein Enzym, welches sich in verschiedene Isoenzyme unterteilt. Diese gliedern sich in CK-MM (Skelettmuskeltyp), CK-MB (Myokardtyp), CK-BB (Cerebraler CK Marker) sowie CK-MiMi (Mitochondrientyp) (Göthert M et al. 1975; Schlattner U et al. 2006; Wallimann T et al. 2007). Da die CK-MB in besonders hoher Konzentration im Herzmuskel zu finden ist und bei erhöhter Durchlässigkeit der Zellmembran als intrazelluläres Enzym ins Blut gelangt, sprechen erhöhte Werte im Serum für eine mögliche Myokardschädigung (Neumeier D et al. 1978). Es ist zu beachten, dass der prozentuale Anteil der CK-MB an der Gesamt CK ausschlaggebend ist. In der Humanmedizin beispielsweise spricht ein Anteil unter 6 % für eine Freisetzung aus der Skelettmuskulatur, ein Anteil über 20 % für eine Messstörung, möglicherweise bedingt durch Hepatitis, Pankreatitis oder Darmischämie (Schauseil S et al. 2009).

Eine alleinige Creatin Kinase Erhöhung gilt daher in der Diagnostik der Ischämie sowie der Gewebeschädigung als sehr unspezifisch, da sie die Summe aller oben genannten Isoenzyme ist und auch bei einer isolierten Skelettmuskelschädigung erhöht wäre. Tabelle 6 zeigt den prozentual errechneten Anteil der CK-MB an der Gesamt CK unserer Versuchsreihe.

Diskussion

Tabelle 6: Quotient aus den angegebenen Mittelwerten CK-MB/CK in % LIM und SMC. End Schock = 70 Minuten

	0 h	End shock	24 h	48 h	72 h
LIM	12,78	13,57	1,24	1,377	9,38
SMC	10,96	09,66	0,16	1,46	6,67

Wenn man davon ausgeht, dass das Verhältnis von CK-MB zur Gesamt-Creatin-Kinase beim Schwein ähnlich ist wie in der Humanmedizin, so lässt sich anhand dieser Tabelle zeigen, dass der prozentuale Anteil der CK-MB an der Gesamt CK in der Gruppe der LIM Schweine konstant höher lag, verglichen mit den Tieren des SMC Kollektives. Vor Einleitung des Schockes lag der prozentuale Anteil der CK-MB in der LIM-Gruppe bereits bei nahezu 13 %, in der SMC-Gruppe bei 11 % wobei hier kein ersichtlicher Grund für einen möglichen Myokardschaden vorlag. Die Interpretation der prozentualen Anteile sind daher eingeschränkt. Es sollte kritisch hinterfragt werden, in wie fern die errechneten Werte hier repräsentativ für die Münchner Miniatur-Schweine sind. Entsprechende Literaturstellen im Bereich der Veterinärmedizin, die spezifisch den Anteil der CK-MB an der Gesamt CK für Münchner Miniatur-Schweine berechnet, konnten nicht gefunden werden. Es ist zu diskutieren, ob in folgenden Studien zur genaueren Diagnostik des Myokardschadens, zusätzlich zu den bestimmten Parametern der Anteil von CK-MB zur Gesamt-CK in Zusammenhang mit abgeleiteten EKG's genauer untersucht werden sollte.

Betrachtet man die Ergebnisse der CK sowie der CK-MB als sich ergänzende Serumparameter so sieht man, dass die Differenz der Ausgangswerte der CK sowie der CK-MB in der SMC- sowie der LIM-Gruppe bei Versuchsbeginn nur geringfügig auseinander lagen. CK SMC-Gruppe (1643 ± 220 U/L), CK LIM-Gruppe (1183 ± 87 U/L). CK-MB SMC-Gruppe (180 ± 20 U/L), CK-MB LIM-Gruppe (151 ± 6 U/L).

Im Verlauf war in beiden Diagrammen ein deutlicher Anstieg sowohl der CK als auch der CK-MB besonders nach 24 Std. zu verzeichnen (SMC-Gruppe: CK 58420 ± 9767 U/L, CK-MB 767 ± 84 , LIM-Gruppe: CK 77653 ± 14960 U/L, CK-MB 969 ± 144 U/L). Dies könnte damit erklärt werden, dass die höchste Belastung des Myokardgewebes 24 Stunden nach Schock auftrat. Der erreichbare Maximalwert der CK sowie CK-MB ist in der Humanmedizin mit 24 Stunden nach Trauma

Diskussion

beziehungsweise Myokardschädigung angegeben (Neumeier D et al. 1978). Dieses Erkenntnis spiegelt der Kurvenverlauf der Versuchsreihe wider .

Eine Erholung der CK sowie der CK-MB Werte war nach 48 Stunden erkennbar. Hier waren beide Werte in beiden Gruppen jeweils regredient. Nach 72 Std. hatten sich beide Werte fast auf das Ausgangslevel reduziert. Die CK-Werte waren 72 Stunden nach Schock signifikant niedriger in der LIM-Gruppe (1431 ± 305 U/l) verglichen mit der SMC-Gruppe (2338 ± 233 U/l). Signifikante Unterschiede für CK-MB lagen zwischen den Gruppen nicht vor.

Eine mögliche Erklärung hierfür könnte der positive Effekt des LIM-Systems auf das Myokardgewebe sein. In vorangegangenen Studien konnte anhand von histologischen Gewebeschnitten des Herzens bewiesen werden, dass durch das LIM System die Einwanderung von neutrophilen Granulozyten in die Herzmuskelzelle verhindert wird (Abdel Rahman U et al. 2007). In den histologischen Schnitten dieser Versuchsreihe haben sich ebenfalls verminderte Leukozyten in der Herzmuskulatur gezeigt (Ott A, 2011). In den histologischen Analysen waren unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit als Folge des Schocks im Herz allerdings keine relevanten Gewebeschäden nachweisbar. Die kurzfristig erhöhten CK und CK-MB-Werte können als Zeichen einer temporären kardialen Beeinträchtigung gedeutet werden, eine nachhaltige schockassoziierte Gewebeschädigung war jedoch nicht nachweisbar.

Durch die verminderte Transmigration der polymorphkernigen Granulozyten ins Gewebe, hier besonders ins Myokardgewebe, wird der Herzmuskel möglicherweise durch das LIM System vor endothelialer Dysintegrität protegiert und zeigt somit respektive nach 72 Stunden eine verbesserte kardiale Pumpfunktion verglichen mit der SMC-Gruppe (Witte I, 2011).

Weiterhin ist die Interpretation der CK sowie CK-MB-Werte beider Gruppen unter Berücksichtigung der hohen SEM Werte durchzuführen. Es sollte überlegt werden, in folgenden Studien zur Vermeidung von Fehlerquellen die CK sowie CK-MB Werte der Schweine im Vorfeld über mehrere Tage zu bestimmen, um eine Referenz zu erhalten. Zu bedenken ist ebenfalls die Halbwertszeit der Enzyme CK und CK-MB, welche bei Interpretation der Ergebnisse zu berücksichtigen sind. Hier stellt sich die Frage, ob engmaschigere Bestimmungen sowie längere Nachbeobachtungszeiten notwendig sind.

Diskussion

Zur spezifischen Abschätzung einer Myokardschädigung kann in Ergänzung zu CK und CK-MB Troponin-T bestimmt werden (Müller-Bardoff M et al. 1997; Neumeier D et al. 1978). Troponin ist ein Eiweiß der Muskulatur welches als Troponin-C, Troponin-I und Troponin-T besonders in der Herzmuskelzelle zu finden ist (Gaze DC et al. 2008; Apple FS, 1999). Kommt es zu einer erhöhten Permeabilität der Zellmembran des Myokardgewebes so gelangt das Protein Troponin-T in das Blut (WU AHB et al. 1998). Das Kurvendiagramm des Troponin-T war in unserem Projekt aufgrund des sprunghaften Verlaufs nur schwer zu interpretieren. Nach 24 Stunden zeigten die Troponin-T-Werte ihren Maximalwert in beiden Gruppen (SMC: $0,08 \pm 0,03$ ng/ml, LIM: $0,15 \pm 0,05$ ng/ml). Troponin-T ist in der Humandiagnostik normalerweise ein sehr sensitiver kardialer Marker, welcher ca. 3 Stunden nach Myokardschädigung im Blutserum nachweisbar ist und seinen Höchstwert 20 Stunden nach Schädigung erreicht (WU AHB et al. 1998). Eine Normalisierung stellt sich etwa nach 2 – 3 Wochen ein (Rottbauer W et al. 1996).

In der LIM- und SMC-Gruppe lagen die Troponin-T Werte 24 Stunden nach Schockgeschehen oberhalb der Referenzgrenze von 0,05 ng/ml. Dies ist erklärbar durch die schon bekannte Zeitspanne von etwa 20 Stunden in welcher der Troponin-T Wert seinen Spitzenwert erreicht. Ebenso zeigten die Marker CK und CK-MB ihren Höchstwert nach 24 Stunden. Hieraus könnte man den Schluß ziehen, dass die forcierte Hämorrhagie zu einem adäquaten Schockgeschehen mit konsekutiver Gewebeschädigung in beiden Gruppen geführt hat.

Während des gesamten Beobachtungszeitraumes gab es keinen Unterschied in den Troponin-T-Werten zwischen den Gruppen. Lediglich in der LIM-Gruppe war ein Anstieg über die Zeit zum Zeitpunkt „End-Schock“ und 24 h vorhanden. Ein möglicher Grund für erhöhte Troponin-T Werte nach einem Schock wäre die Freisetzung von Troponin-T aus den Herzmuskelzellen, deren Integrität durch eingewanderte Leukozyten zerstört wurden. Der Anstieg von Troponin-T würde somit gegen einen positiven Effekt des LIM sprechen. In dem vorliegenden Modell wurden in der LIM-Gruppe allerdings weniger Neutrophile im Myokard nachgewiesen als in der SMC-Gruppe (Ott A, 2011).

5.3.3 Leber

Eines der häufigsten Schockorgane mit spezifischen Veränderungen ist die Leber, welche eine spezifische „Schockreaktion“ in 45 – 55 % der Fälle zeigt (Büttner R et al. 2003). Zur Definition der Schockleber werden zumeist die klinischen Kriterien nach Henrion herangezogen (Henrion J et al. 2003; Madl C et al. 2007). Diese sind im Folgenden:

- 1) Ein akuter und massiver, aber potentiell reversibler Anstieg der Transaminasen auf zumindest das 20 fache der Norm, wobei in der Regel die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) vor der Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) führend ist.
- 2) Eine zugrunde liegende kardiale, zirkulatorische und/oder respiratorische Insuffizienz
- 3) Der Ausschluss anderer leberschädigender Ursachen, insbesondere virale und medikamentös-toxische Noxen.

Infolge der dualen Blutversorgung (70 % des Blutvolumens erhält die Leber über die Pfortader und 30 % über die Arteria hepatica) und einer potentiellen Steigerung der Sauerstoffextraktion auf bis zu 95 % kann häufig auch im Schockzustand eine suffiziente Sauerstoffversorgung der Leber aufrechterhalten werden (Madl C et al. 2007). Als Folge einer Hypoxie kann es zu einer unzureichenden Beta-Oxidation der Fettsäuren kommen, die eine Leberparenchymverfettung nach sich zieht. Nach schweren Verläufen bilden sich zentrale Leberparenchymnekrosen (Büttner R et al. 2003). Histologische Kennzeichen des Leberparenchyms im Schock sind im Allgemeinen unspezifischer als die der Lunge. Zu den Kennzeichen gehören unter anderem zentrilobuläre Leberzellnekrosen, die akute venöse Hyperämie, disseminierte Einzelnekrosen/Gruppennekrosen, Mikrothromben sowie unspezifische Reaktionen der von Kupfferschen Sternzellen (Madl C et al. 2007). Die Leber nimmt meisten erst dann irreversible Schädigung durch einen hämorrhagischen Schock an, wenn Sie im Vorfeld z.B. durch eine Zirrhose schon vorbeschädigt ist (Madl C et al. 2007). Die histologischen Präparate der SMC-Gruppe verglichen mit denen der Kontrollgruppe haben in Lunge und Leber teilweise Veränderungen aufgezeigt, wie sie auch bei einem beginnenden Schock beobachtet werden können. Diese waren hierfür aber nicht beweisend oder spezifisch. Richtige "Schocknekrosen" haben sich in der Leber nicht nachweisen lassen. Eine absolute oder gar repräsentative Anhäufung in einer der 3 Gruppen

Diskussion

fand sich nicht. Insgesamt zeigten die Tiere der SMC-Gruppe jedoch eine vermehrte granulozytäre Infiltration im Vergleich zu den Tieren der Kontrollgruppe (Ott A, 2011).

Die Aspartat-Amino-Transferase (AST) sowie die Alanin-Aminotransferase (ALT) sind Enzyme, welche ihre höchsten Konzentrationen in der Leberzelle sowie im Herz- und Skelettmuskel finden (Schauseil S et al. 2009). Die ALT gilt als leberspezifisch und befindet sich im Zytoplasma der Zelle (Schauseil S et al. 2009). Die AST liegt vermehrt in den Zellmitochondrien und wird als nicht leberspezifisch angesehen (Schauseil S et al. 2009). Leberzellschädigungen so wie sie hier nach hämorrhagischem Schock postuliert werden, führen folglich zu erhöhten Serumwerten (Panteghini M, 1990). Die Werte der Transaminasen AST und ALT in der LIM- und SMC-Gruppe differierten zu Beginn der Versuchsreihe und am Ende des Schocks nur unwesentlich (SMC, End Schock AST: $37 \pm 4a$ U/L, ALT: $31 \pm 3.3a$ U/L, LIM, End Schock AST: 31 ± 2.91 U/L, ALT: $26 \pm 1.28a$ U/L). Ein über die Zeit signifikanter Anstieg zeigte sich in beiden Gruppen nach 24 Std. Der Kurvenverlauf verhielt sich bei den Parametern AST und ALT ähnlich dem Verlauf der bislang diskutierten Troponin-T-, CK- und CK-MB-Werte. Es zeigte sich ein maximaler Ausschlag nach 24 Stunden. Diese Tatsache könnte damit erklärt werden, dass der hämorrhagische Schock zu einem zumindest reversiblen Organschaden führt und dieser jeweils in den Bereich des Meßzeitpunktes 24 Stunden fällt.

AST hat beim Menschen eine angegebene Halbwertszeit von ca. 20 – 39 Stunden (Schauseil S et al. 2009). Dies könnte den raschen Abfall nach 24 Stunden erklären. Zum Zeitpunkt 72 Stunden lagen die AST-Werte beider Kollektive (LIM und SMC) nahe dem Ausgangswert und differierten nur geringfügig.

Die Halbwertszeit des Enzyms ALT ist beim Menschen mit ca. 50 Stunden angegeben (Schauseil S et al. 2009). Hieraus könnte man den Schluss ziehen, dass der Abfall der Serumkonzentration 48 und 72 Stunden nach Beginn der Versuchsreihe partiell durch das vermindert messbare Enzym im Serum zu erklären ist. Pathophysiologisch könnten die noch insgesamt erhöhten ALT Konzentrationen auch nach 72 Stunden dadurch erklärt werden, dass die hepatische Funktionalität noch eingeschränkt ist und das Lebergewebe durch den Schock nachhaltig geschädigt ist. Dass LIM hatte keinen Einfluss auf ALT und AST-Werte. Zusammenfassend bleibt festzustellen, dass sich ein Effekt der LIM-Gruppe weder

Diskussion

aus den AST noch aus den ALT-Werten ableiten lässt.

Das laborchemische Ergebnis ist mit den histologischen Ergebnissen zur Leukozyteninfiltration nicht in Einklang zu bringen. Hier konnte gezeigt werden, dass die Infiltration neutrophiler Granulozyten auch im Lebergewebe durch das LIM System reduziert werden konnte (Ott A, 2011).

Insgesamt stellen ALT und AST lediglich Surrogatparameter für eine Gewebeschädigung in der Leber dar. Die genaue Kausalität zwischen dem erreichten Schockgeschehen und den hohen ALT-Werten sollte im Rahmen weiterer Studien multifaktoriell untersucht werden. Hierzu könnte als Ergänzung der De Ritis Quotient herangezogen werden sowie zusätzlich die Glutamatdehydrogenase (GLDH) als Parameter zur Einschätzung einer schweren Leberzellschädigung bestimmt werden. Als bildgebendes Ergänzungsverfahren könnten CT und MRT bedacht werden.

5.3.4 Niere

Pathologische Zeichen der akuten Insuffizienz der Niere wären Blässe, Erweichung, Vergrößerung und Interstitielles Ödem. Die Rinde ist dann breit und blass, während die Markkegel dunkel hyperämisch sind (betonte Mark-Rinden-Grenze) (Thomas C et al. 1996). Die Glomeruli sind kollabiert, die Bowman-Kapsel ist weit, die Tubuli sind als Ausdruck einer Tubulusinsuffizienz dilatiert (Thomas C et al. 1996). Als Folge der Hypoxie sieht man geschwollene Tubulusepithelien mit herdförmigen Tubulusepithelnekrosen (Thomas C et al. 1996). Mikroskopisch findet man in den Glomerulusluschlingen Mikrothromben. Nach embolischen Verschlüssen resultieren Rindennekrosen. In der Erholungsphase weicht die anfängliche An-(Oligo)-urie einer Polyurie durch Konzentrationstörungen (Büttner R et al. 2003).

In den geführten histopathologischen Untersuchungen dieser Versuchsreihe konnten keine Zeichen einer akuten Insuffizienz nachgewiesen werden. Dies galt sowohl für die SMC als auch für die LIM-Gruppe. Dies war insofern überraschend als dass die Nieren in 20 % der Fälle beim Schock betroffen sind (Büttner R et al. 2003). Bereits Werte des arteriellen Mitteldruckes von unter 80 – 100 mmHg können in Abhängigkeit von der Dauer zur akuten Niereninsuffizienz führen (Büttner R et al. 2003).

Zur Abschätzung einer renalen Schädigung anhand serologischer Parameter nach hämorrhagischem Schock sowie zur Überprüfung des Einflusses des LIM-Systems

Diskussion

wurde Kreatinin im Serum bestimmt. Der Blutplasmaspiegel von Kreatinin hängt von unterschiedlichen Faktoren wie Muskelmasse, körperlicher Aktivität, Lebensalter, Geschlecht und Nierenfunktion ab. Die Münchner Miniatur-Schweine wurden alle unter gleichen Haltungsbedingungen sowie vergleichbarer Kalorienzufuhr pro Tag gezüchtet, so dass davon ausgegangen werden kann, dass die Muskelmasse sowie die körperliche Aktivität vergleichbar waren. Kreatinin gibt jedoch näheren Anhalt über den tatsächlichen Organschaden als andere harnpflichtige Substanzen wie zum Beispiel Harnstoff (von Engelhardt W et al. 2010).

Es gilt hier den Verlauf der Kreatinin Werte von Beginn des Versuches bis zum Zeitpunkt 72 Stunden zu betrachten und zu diskutieren. Am Ende des Schockgeschehens sah man kaum Veränderungen der Serumkreatininwerte beider Gruppen, verglichen mit dem Zeitpunkt 0. Dies könnte pathophysiologisch damit erklärt werden, dass eine renale Beeinträchtigung bedingt durch den hämorrhagischen Schock erst dann zu messen ist, wenn die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) unter 50 % abfällt (Kampmann JP et al. 1981). Zum Messzeitpunkt 24 Stunden stiegen in beiden Gruppen die Kreatininwerte an und zeigten einen in etwa ähnlichen Wert. Wie schon bei oben diskutierten Serumparametern scheint die Auswirkung des Schockgeschehens auf Organebene in den Meßzeitpunkt 24 Stunden zu fallen. 48 Stunden nach Versuchsbeginn war eine Regredienz der Kreatininwerte in beiden Gruppen zu verzeichnen, hier deutlicher bei den SMC Schweinen. Nach 72 Stunden waren die Kreatininwerte in der LIM-Gruppe signifikant niedriger als in der SMC-Gruppe. Hieraus könnte man den Schluss ziehen, dass die Langzeitschäden, welche durch das Einwandern der neutrophilen Granulozyten hervorgerufen werden, durch den Einsatz des LIM-Systems verhindert werden konnten. Diese Hypothese wäre mit dem histologischen Ergebnis von Frau Ott in Einklang zu bringen (Ott A, 2011). In ihren histologischen Schnitten der Niere war eine Limitation der Infiltration durch neutrophile Granulozyten durch das LIM System festgestellt worden. Der Unterschied der Leukozytenanzahl im Gewebe war zwar marginal aber im Vergleich SMC vs. LIM feststellbar (Ott A, 2011). Da während des gesamten Versuchszeitraumes die Kreatininwerte in beiden Gruppen innerhalb des Referenzbereiches von 1,1 – 1,8 mg/dl lagen ergibt sich somit kein Hinweis auf einen Gewebeschaden.

Diskussion

Der wesentliche Pfeiler der Therapie des hämorrhagischen Schocks ist ein ausreichender Volumenersatz (Stürmer K et al. 2011). Als Volumenersatz stehen neben Blutprodukten im wesentlichen kolloidale und kristalloide Lösungen sowie isotone Kochsalzlösung zur Verfügung (Stürmer K et al. 2011). In Abhängigkeit der gewählten Flüssigkeit zur Substitution und der Menge könnte dies einen Einfluss auf das Ausmaß der inflammatorischen Antwort oder potentielle Organschäden haben. In dem hier vorliegenden Großtiermodell erfolgte die Reperfusion mit einer kolloidalen Lösung (Ringer-Lösung). Für die Ringer-Lösung konnte für die Reperfusion bei schwerverletzten Patienten mit hämorrhagischem Schock in verschiedenen Studien Vorteile gegenüber den anderen Lösungen nachgewiesen werden (Stürmer K et al. 2011). In einer aktuellen Cochrane-Analyse konnte kein Vorteil von kolloidalen Lösungen gegenüber den kristalloiden Lösung für die Flüssigkeitssubstitution kranker Patienten nachgewiesen werden (Perel P et al. 2013). Vielmehr gibt es Hinweise auf eine erhöhte Mortalität nach der Behandlung von kolloidalen Lösungen. Für die Reperfusion werden sie daher aktuell nicht mehr empfohlen (Perel P et al. 2013). Die Anwendung von Kochsalzlösungen beinhaltet das Risiko von Dilutionsazidosen (Rhee P et al. 1998). Durch die Zugabe von Laktat zu der Ringerlösung soll das Risiko einer Azidose verringert sein. Dieser Zusatz soll jedoch auf der anderen Seite zu einer weiteren Aktivierung neutrophiler Granulozyten und einer verstärkten Schädigung der Lunge führen (Rhee P et al. 1998). Es gibt gegensätzliche Hinweise darauf, dass die Gabe von Ringer-Laktat eine Apoptose neutrophiler Granulozyten induziert (Deb S et al. 1999). Interessanterweise war in der Studie von Deb et al. die Reperfusion mit zuvor gewonnenem Vollblut (Eigenblutreperfusion) nicht mit einer verstärkten Apoptose verbunden. In unserem Schweinemodell wurde, aufgrund nicht vorhersehbarer Effekte auf die inflammatorische Antwort, von einer Eigenblutspende wegen der Notwendigkeit der großen Menge zuvor entnommen Blutes abgesehen. Die Menge an Eigenblut von 500 ml hätte in unserem Großtiermodell unseres Erachtens nach eine weiterführende Aufarbeitung vor einer Reperfusion benötigt. Für weiterführende Studien wäre es jedoch von Interesse, ob bei gleich gewählter „Schocktiefe“ aber modifizierter Flüssigkeitssubstitution ein Gewebeschaden auf Organebene oder präzisere Effekte des LIM nachweisbar wären.

5.3.5 Darm

Als Folge eines hämorrhagischen Schockes kann es auch zu einer Schädigung des Darmes kommen. Die Prädilektionsstellen sind Dünn- und Dickdarm. Durch die Störung der Mucosabarriere kommt es zu einem Übertritt von Bakterien und deren Toxine aus dem Darmlumen in die systemische Zirkulation (Knichwitz G et al. 2005). Auf diese Weise entsteht im Körper ein bakterieller Streuherd. Klinisch und histologisch kommt es zur Ausbildung eines Schockdarms, der durch einen paralytischen Ileus mit weiten, ödematös verdickten Darmschlingen und stark herabgesetzter Motilität gekennzeichnet ist (Luther B, 2001). Mikroskopisch sieht man neben dem ödematös aufgetriebenem Darm unregelmäßige, fleckförmig, ischämische Herde im Sinne einer ischämischen Enteritis (Luther B, 2001). Durch die gestörte Propulsion des Darminhaltes kommt es zur bakteriellen Überwucherung des Darminhaltes mit zum Teil atypischer Darmflora und zur pathologischen Besiedlung ansonsten keimarmer Darmabschnitte, wie z.B. das terminale Ileum und der Magen (Weinstein RA et al. 2002; Reinhart K et al. 2010). Mischungen aus Nekrosen und Blutung welche das Bild einer fleckförmigen ischämischen Enteritis ggf. mit Durchwanderungsperitonitis bilden sind dann festzustellen (Büttner R et al. 2003). Wie in den anderen Organen wurden in unserem Modell als Folge des Schocks auch im Darm keine der aufgeführten Zeichen einer Schädigung nachgewiesen. Wie für die anderen Organe ist zu prüfen, ob die Schocktiefe in unserem Modell ausreichend war, um einen nachhaltigen Gewebeschaden auszulösen. Im klinischen Alltag stellt der Darm auf der anderen Seite keinen primären Manifestationsort nach einem Schock dar (Hersch M et al. 1990; Mc Fadden D, 1991). Es wäre daher denkbar, dass Schockfolgen im Sinne eines Gewebeschadens zu einem späteren Zeitpunkt auftreten könnten. Nachbeobachtungszeiträume von über 72 Stunden wären dafür notwendig. Gleichwohl sind ohne Gewebeschaden in den wesentlichen schockabhängigen Organen Lunge und Leber die Wahrscheinlichkeit einer sekundären Beteiligung des Darms gering.

5.4 Schlußfolgerungen aus der Arbeit

Ziel dieser Arbeit war es, die potentiellen Gewebeschäden, die durch einen hämorrhagisch induzierten Schock hervorgerufen werden im Großtiermodell zu untersuchen. Der Schwerpunkt wurde hierbei auf die Messung laborchemischer und physiologischer Surrogatparameter sowie auf histologischen Untersuchungen der Gewebeischämie gelegt. Insbesondere sollten mögliche Effekt der extrakorporalen Immuntherapie mit dem Leukozyten-Inhibitionsmoduls (LIM) auf diese Schäden untersucht werden.

Die Arbeitshypothese ging davon aus, dass die gezielte Inhibition von aktivierten neutrophilen Granulozyten präventiv die durch diese hervorgerufene neutrophilenvermittelte Gewebeschädigung verhindern könnte. In Vorarbeiten wurde bereits nachgewiesen, dass die Bindung Neutrophiler an mit FAS-L beschichteten Membranen dazu führt, diese innerhalb von wenigen Minuten zu inaktivieren bevor Zeichen der Apoptose zu sehen sind (Cinatl J Jr et al. 2000). Das veranlasste zu der Annahme, dass immobilisierende agonistische anti-Fas therapeutisch genutzt werden können, um die Überaktivierung von Neutrophilen zu limitieren.

Um neutrophile Granulozyten in ihrer frühen Phase der posthämorrhagischen Immundysregulation zu inaktivieren, wurde in dieser Versuchsreihe das LIM in Form eines extrakorporalen Kreislaufs eingesetzt. Ein ähnliches Konzept wurde, wie schon in obigen Kapiteln beschrieben, in vorherigen Studien bei Patienten angewandt welche sich herzchirurgischen Operationen unterzogen (Scholz M et al. 2004).

Der durchgeführte hämorrhagische Schock führte zu einer temporären Erhöhung der laborchemischen Parameter CK, CK-MB, Troponin-T, ALT und AST 24 Stunden nach dem Schock, welches für eine schockassoziierte Beeinträchtigung der Organe spricht. Nachhaltig nachweisbare Gewebeveränderungen 48 oder 72 Stunden nach dem Schock konnten histologisch allerdings nicht nachgewiesen werden. Auch die Serumparameter zeigten zu späteren Zeitpunkten keine relevanten Erhöhungen mehr. Ein wesentlicher Grund hierfür könnte die in diesem Modell gewählte Schocktiefe gewesen sein, so dass möglicherweise die Belastungen nicht ausreichend waren um relevante, durch eine posthämorrhagische Inflammation ausgelöste, Organschäden hervorzurufen. Mögliche Effekte des LIM auf etwaige

Diskussion

nachhaltige Gewebeschäden können daher anhand des durchgeführten Modells nur eingeschränkt interpretiert werden.

6 Ausblick

Im Rahmen dieser experimentellen Arbeit wurde ein hämorrhagisches Schockmodell am Schwein etabliert. Dieses Modell kann für weitere Studien in Bezug auf den hämorrhagischen Schock verwendet und modifiziert werden. Weiterhin gelang der Einsatz des LIM-Systems am Schwein.

In dem angewandten Modell konnte teilweise eine Erhöhung von serologischen Surrogatparametern für eine Gewebeschädigung schockanfälliger Organe aufgezeigt werden. Eine Organschädigung irreversiblen Ausmaßes, welche auch histologisch einsehbar wäre, war nicht vorhanden.

In folgenden Studien wäre es denkbar, den Nachbeobachtungszeitraum gegebenenfalls zu verlängern um Langzeitschäden sowie Effekte des LIM-Systems besser überprüfen zu können.

Zur weiteren Verifizierung eines renalen Schadens könnten in nachfolgenden Untersuchungen zudem die Kreatinin-Clearance sowie Cystatin bestimmt werden. Diese beiden Parameter ergänzen sich in der Abschätzung einer Nierenfunktionsstörung und sind zusammen sensitiver (Keller C et al. 2007).

Zur Abschätzung von Gewebeschäden sollten in fortführenden Experimenten die Schocktiefe oder Schocklänge modifiziert werden. Ob das LIM System Effekte auf Organschäden nach hämorrhagischem Schock hat könnte dann evaluiert werden.

Der unbedenkliche Einsatz des Systems konnte schon in klinischen Studien bei Patienten, die sich einer Operation mit Herz-Lungen-Maschine unterzogen, gezeigt werden.

Prinzipiell denkbar wäre der Einsatz des immunmodulierenden LIM-Systems im Rahmen anderer Krankheitsentitäten. Anbieten würden sich hierbei zum Beispiel Patienten, die sich in einer frühen Phase einer systemischen Inflammation befinden und bei denen eine Hämodialyse durchgeführt wird. Bei diesen Patienten sollte jedoch sicher keine systemische Infektion vorliegen.

7 Literaturverzeichnis

A

Abdel-Rahman U, Margraf S, Aybek T, Lögters T, Bitu-Moreno J, Francischetti I, Kranert T, Grünwald F, Windolf J, Moritz A, Scholz M: Inhibition of neutrophil activity improves cardiac function after cardiopulmonary bypass. *J Inflamm* **2007**, 4:21-29

Adams HA, Baumann G, Gänsslen A, Janssens U, Knoeffel W, Koch T, Marx G, Müller-Werdan U, Pape HC, Prange W, Roesner D, Standel T, Teske W, Werner G, Zander R: Definition of Schock Types. *Intensiv Med Notfall Med. Schmerzther.* **2001**, 36:140-3

Aird WC: The role of the endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome. *Blood* **2003**, 10:3765-3777

Albelda SM, Smith CW, Ward PA: Adhesion molecules and inflammatory injury. *FASEB J* **1994**, 8:504-512

Aldridge AJ: Role of the neutrophil in septic shock and the adult respiratory distress syndrome. *Eur J Surg* **2002**, 168:204-14

Amato MB, Barbas CS, Medeiros DM, Magaldi RB, Schettino GP, Lorenzi-Filho G, Kairalla RA, Deheinzelin D, Munoz C, Oliveira R, Takagaki TY, Carvalho CR: Effect of a protective-ventilation strategy on mortality in the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* **1998**, 338:347-54

American College of Surgeons Committee on Trauma: Advanced trauma life support program for doctors, 7th edn. Chicago: American College of Surgeons **2004**:79

Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB, Ward PA: Ischemia/reperfusion injury. *J Surg Res* **2002**, 105: 248-58

Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR: Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* **2001**, 29(7):1303-10

Annane D, Sébille V, Charpentier C, Bollaert PE, François B, Korach JM, Capellier G, Cohen Y, Azoulay E, Troché G, Chaumet-Riffaud P, Bellissant E: Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *JAMA* **2002**, 288:862-71

Aouifi A, Piriou V, Blanc P, Bouvier H, Bastien O, Chiari P, Rousson R, Evans R, Lehot JJ: Effect of cardiopulmonary bypass on serum procalcitonin and C-reactive protein concentrations. *Br J Anaesth.* **1999**, 83(4):602-7

Apple FS: Tissue specificity of cardiac troponin I, cardiac Troponin-T and creatin kinase MB. *Cin Chim Acta* **1999**, 284:151-159

Ashbaugh DG, Bigelow DB, Petty TL, Levine BE: Acute respiratory distress in adults. *Lancet* **1967**, 7511:319-23

Ayub K, Laffafian I, Dewitt S, Hallett MB: Ca influx shutdown in neutrophils induced by Fas (CD95) cross-linking. *Immunology* **2004**, 112:454-460

B

Baillie HM: Understanding shock: a brief history. *Can J Gen Intern Med* **2008**, 3:22-25

Literaturverzeichnis

- Baltes J: Untersuchungen zum Einfluss des Leukozyten-Inhibitions-Moduls auf die posthämorrhagische Entstehung von Apoptose in verschiedenen Organen. Dissertation Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf **2011**
- Baue AE, Durham R, Faist E: Systemic inflammatory response syndrome (SIRS), multiple organ dysfunction syndrome (MODS), multiple organ failure (MOF): are we winning the battle?. *Shock* **1998**, 10:79-89
- Bauer M, Brunkhorst F, Welte T, Gerlach H, Reinhart K: Sepsis – Aktuelle Aspekte zur Pathophysiologie, Diagnostik und Therapie. *Anästhesist* **2006**, 55:835-845
- Bein T, Pfeifer M: Intensivbuch Lunge: Von der Pathophysiologie zur Strategie der Intensivtherapie. Berlin: Medizinisch wissenschaftliche Verlagsgesellschaft **2010**, 164-170
- Berchtold R, Hamelmann H, Peiper HJ, Trentz O: Chirurgie. Urban und Fischer **2008**, 4:80-110
- Bergentz SE, Carlsten A: Hidden Acidosis in Experimental Shock. *Ann Surg* **1969**, 169(2):227-232
- Bergentz SE, Lewis D, Landkvist D: Die Lunge im Schock: Thrombozytenanhäufung nach Trauma und intravasale Gerinnung. *Langenbecks Arch Surg* **1971**, 361:658-664
- Bernard G, Artigas A, Brigham K, Carlet J, Falke K, Hudson L, Lamy M, Legall J, Morris A, Spragg R: The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med* **1994**, 9:72-81
- Bevilacqua MP, Nelson RM, Mannori G, Cecconi O: Endothelial-leukocyte adhesion molecules in human disease. *Ann Rev Med* **1994**, 45: 361-378
- Böcker W, Denk H, Heitz PU: Pathologie. München: Urban und Schwarzenberg **1997**, 4:221-225
- Böcker W, Denk H, Heitz PU, Moch H: Pathologie. München: Urban und Schwarzenberg **2008**, 4:235-246
- Boldin MP, Goncharov TM, Goltsev YV, Wallach D: Involvement of MACH, a novel MORT1/FADD-interacting protease, in Fas/APO-1- and TNF receptor-induced cell death. *Cell* **1996**, 85:803-815
- Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ: Definition for Sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM consensus conference committee. *Chest* **1992**, 10:1644-1655
- Bone RC: Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: what we do and do not know about cytokine regulation. *Crit Care Med* **1996**, 24:163-72
- Borrero E, Bank S, Margolis I, Schulman ND, Chardavoyne R: Comparison of antacid and sucralfate in the prevention of gastrointestinal bleeding in patients who are critically ill. *Am J Med* **1985**, 79:62-64
- Botha AJ, Moore FA, Moore EE, Peterson VM, Goode AW: Base deficit after major trauma directly relates to neutrophil CD11b expression: a proposed mechanism of shock-induced organ injury. *Intensive Care Med*. **1997**, 23:504-509
- Bratton DL, Henson PM: Neutrophil clearance: when the party is over, clean-up begins. *Trends Immunol* **2011**, 32:350-357
- Braun F, Platz KP, Müller AR: Ischämie-Reperfusionsschaden bei Dünndarmtransplantation. *TransplantLinc* **2005**, 11:29
- Bresalier RS, Grendell JH, Cello JP, Meyer AA: Sucralfate suspension versus titrated antacid for the prevention of acute stress-related gastrointestinal hemorrhage in critically ill patients. *Am J Med* **1987**, 83:110-16

Literaturverzeichnis

Brown KA, Brain SD, Pearson JD, Edgeworth JD, Lewis SM, Treacher DF: Neutrophils in development of multiple organ failure in sepsis. *Lancet* **2006**, 368:157-69

Brunkhorst F, Hagel S: *Intensivmedizin und Notfallmedizin*. Berlin: Springer Verlag **2011**, 59-61

Bundgaard-Nielsen M, Wilson TE, Seifert T, Secher NH, Crandall CG: Effect of volume loading on the Frank-Starling relation during reductions in central blood volume in heat-stressed humans. *J Physiol* **2010**, 588:3333-9

Büttner R, Thomas C: *Allgemeine Pathologie*. Stuttgart: Schattauer **2003**, 3:250-260

C

Carlos TM, Harlan JM: Leukocyte-Endothelial Adhesion Molecules. *Blood* **1994**, 84(7): 2068-2101

Chang B, Nishikawa M, Sato E, Inoue M: Mice lacking inducible nitric oxide synthase show strong resistance to anti-Fas antibody-induced fulminant hepatitis. *Arch Biochem Biophys* **2003**, 411:63-72

Cheng J, Zhou T, Liu C, Shapiro JP, Brauer MJ, Kiefer MC, Barr PJ, Mountz JD: Protection from Fas mediated apoptosis by a soluble form of the Fas molecule. *Science* **1995**, 263:1759

Chinnaiyan AM, O'Rourke K, Tewari M, Dixit VM: FADD, a novel death domain-containing protein, interacts with the death domain of Fas and initiates apoptosis. *Cell* **1995**, 81:505-512

Christ-Crain M, Stolz D et al.: Procalcitonin guidance of antibiotic therapy in community-acquired pneumonia. *American journal of respiratory and critical care medicine* **2006**, 1:84-93

Cinatl J Jr, Blaheta R, Bittoova M, Scholz M, Margraf S, Vogel JU, Cinatl J, Doerr HW: 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* **2000**, 165:4405-4413

Cook D, Guyatt G, Marshall J, Leasa D, Fuller H, Hall R, Peters S, Rutledge F, Griffith L, McLellan A, Wood G, Kirby A: A comparison of sucralfate and ranitidine for the prevention of upper gastrointestinal bleeding in patients requiring mechanical ventilation. Canadian Critical Care Trials Group. *N Engl J Med* **1998**, 338:791-97

Cox G, Crossley J, Xing Z: Macrophage engulfment of apoptotic neutrophils contributes to the resolution of acute pulmonary inflammation in vivo. *Am J Respir Cell Mol Biol*. **1995**,12:232-237

D

Deb S, Martin B, Sun L, Ruff P, Burris D, Rich N, DeBreux S, Austin B, Rhee P: Resuscitation with lactated Ringer's solution in rats with hemorrhagic shock induces immediate apoptosis. *J Trauma*. **1999**, 46(4):582-8

De Vries AJ, Gu YJ, Post WJ, Vos P, Stokroos I, Lip H, van Oeveren W: Leucocyte depletion during cardiac surgery: a comparison of different filtration strategies. *Perfusion* **2003**,18:31-38

Deans KJ, Minneci PC, Eichacker PQ, Natanson C: The efficacy of drotrecogin alfa depends on severity of illness. *Crit Care Med* **2000**, 32:2347

Deitch EA: Multiple organ failure. Pathophysiology and potential future therapy. *Ann Surg* **1992**, 216: 117-34

Dick W, Schuster HP: *Notfall- und Intensivmedizin*. Berlin: De Gruyter **2001**, 2:350-357

Dörner K: *Klinische Chemie und Hämatologie*. Stuttgart: Thieme Verlag **2006**, 3:208-210

Literaturverzeichnis

Douzinias EE, Kollias S, Tiniakos D, Evangelou E, Papalois A, Rapidis AD, Tsoukalas GD, Patsouris E, Roussos C: Hypoxemic reperfusion after 120 mins of intestinal ischemia attenuates the histopathologic and inflammatory response. *Crit Care Med* **2004**, 32:2279-2283

Druml, W: Multi-Organ-Versagen: das Versagen der Zelle. In: *Intensivmedizinisches Seminar Band 4: Multiorganversagen*. Wien, New York: Springer Verlag **1992**, 1-8

E

Earnshaw WC, Martins LM, Kaufmann SH: Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. *Annu Rev Biochem*. **1999**, 68: 383-424

Engel C, Brunkhorst FM, Reinhart K, Löffler M: Prävalenz, Morbidität und Mortalität der schweren Sepsis auf deutschen Intensivstationen: Ergebnisse einer bundesweiten Querschnittserhebung des Kompetenznetzes Sepsis, Deutsche Gesellschaft für Medizinische Informatik, Biometrie und Epidemiologie e.V. *German Medical Science* **2006**

Engelmann L, Schuster HP: Diagnostik und Intensivtherapie bei Sepsis und Multiorganversagen. Darmstadt: Steinkopff Verlag **2006**, 1-24

Engler R, Covell JW: Granulocytes cause reperfusion ventricular dysfunction after 15 min ischaemia in the dog. *Circ Res* **1987**, 61:20-28

Engler RL, Schmid-Schönbein GW, Pavelec RS: Leukocyte capillary plugging in myocardial ischemia and reperfusion in the dog. *Am J Pathol* **1983**, 111:98-111

Ertel W, Trentz O: Polytrauma und Multiorgan-Dysfunktionssyndrom (MODS). Definition-Pathophysiologie-Therapie. *Zentralbl. Chir.* **1994**, 119, 159 - 167

F

Fan J, Li Y, Levy RM, Fan JJ, Hackam DJ, Vodovotz Y, Yang H, Tracey KJ, Billiar TR, Wilson MA: Hemorrhagic shock induces NADPH oxidase activation in neutrophils: role of HMGB1-TLR4 signaling. *J Immunol* **2007**, 178:6573-80

Frank H, Seligman A, Fine J: Traumatic Shock. The treatment of hemorrhagic shock irreversible to replacement of blood volume deficiency. *J Clin Invest* **1945**, 24:435-444

Freitas M, Lima JL, Fernandes E: Optical Probs for detection and quantification of neutrophils oxidative burst. A Review. *Anal Chim Acta* **2009**; 649:8-23

Fung YL, Fraser JF, Wood P, Minchinton RM, Silliman CC. The systemic inflammatory response syndrome induces functional changes and relative hyporesponsiveness in neutrophils. *J Crit Care*. **2008**, 23(4):542-9

G

Galli F, Piroddi M, Annetti C, Aisa C, Floridi E, Floridi A: Oxidative stress and reactive oxygen species. *Contrib Nephrol* **2005**, 149:240-60

Gaze DC, Collinson PO: Multiple molecular forms of circulating cardiac troponin: analytical and clinical significance. *Ann Clin Biochem* **2008**, 45: 349-355

Glücksman A: Cell death in normal vertebrate ontogeny *Strangeways Research Laboratory. Biological Reviews* **2008**, 26:59-86

Goris et al.: Multiple Organ Failure: generalized autodestructive inflammation ?. *Arch. Surg.* **1985**, 120, 1109-1115

Literaturverzeichnis

Goris, R. J: Can ARDS and MOF be prevented? Update in Intensive Care and Emergency Medicine. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag 1987, 155-162

Göthert M, Bischoff D, Dreyer C: The influence of inhalation anaesthetics on catecholamine secretion from the adrenal medulla in vivo. *Anästhesist* 1975, 24:19-26

Grace PA: Ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg.* 1994, 81: 637- 47

Graf J, Reinhold A, Brunkhorst FM, Ragaller M, Reinhart K, Loeffler M, Engel C: Variability of structures in German intensive care units – a representative nationwide analysis. German Competence Network Sepsis (SepNet): *Wien Clin. Wochenschr* 2010, 122:572-560

Granger DN: Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol* 1988, 255:1269-1275

Groot H: Reactive oxygen species in tissue injury. *Hepatogastroenterology* 1994, 41:328-32

Gulbins E, Jekle A, Ferlinz K, Grassmé H, Lang F: Physiology of apoptosis. *Am J. Physiol Renal Physiol* 2000, 279:605-615

Gutierrez G, Reines HD, Wulf-Gutierrez ME: Clinical review: hemorrhagic shock. *Crit Care.* 2004, 8:373-81

H

Hagimoto N, Kuwano K, Miyazaki H, Kunitake R, Fujita M, Kawasaki M, Kaneko Y, Hara N: Induction of apoptosis and pulmonary fibrosis in mice in response to ligation of Fas antigen. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997, 17:272- 278

Hamp T, Weidenhauer D: Lehrbuch Tertiäre Notfall- und Intensivmedizin. Wien New York: Springer Verlag 2009, 1:84-86

Hardaway RM, James JM, Anderson RW: Intensive study and treatment of shock in man. *J Am Med Assoc* 1967, 199:779-790

Heck M, Fresenius M: Repetitorium Anästhesiologie. Berlin: Springer Verlag 2010, 1:184-186

Heinzeller T, Carl MB: Histologie, Histopathologie und Zytologie für den Einstieg. Stuttgart: Thieme Verlag 2001, 169-170

Hengartner MO: The biochemistry of apoptosis. *Nature* 2000, 407:770-776

Henrion J, Schapira M, Luwaert R, Colin L, Delannoy A, Heller FR: Hypoxic Hepatitis: Clinical and Hemodynamic Study in 142 Consecutive Cases. *Medicine* 2003, 82:392-406

Hess LH, Warner M, Okabe E: Hemorrhagic Shock. *Handbook of Shock and Trauma.* Raven Press 1983, 1:393-412

Hersch M, Gnidee A, Bersten A: Histological and ultrastructural changes in non pulmonary organs during early hyperdynamic sepsis. *Surgery* 1990, 4:397-409

Hiesmayr et al.: Herzkreislaufsystem und Multiorganversagen. In: Intensivmedizinisches Seminar Band 4: Multiorganversagen. Wien – New York: Springer Verlag 1992, 4:1-8

Hoesel LM, Neff TA, Neff SB, Younger JG, Olle EW, Gao H, Pianko MJ, Bernacki KD, Sarma JV, Ward PA: Harmful and protective roles of neutrophils in sepsis. *Schock* 2005, 24:40-47

Literaturverzeichnis

Huerta-Alardín AL, Varon J, Marik PE: Bench-to-bedside review: Rhabdomyolysis – an overview for clinicians. *Crit Care* **2005**, 9(2):158-69

I

Irmler M, Thome M, Hahne M, Schneider P, Hofmann K, Steiner V, Bodmer JL, Schroter M, Burns K, Mattmann C, Rimoldi D, French LE, Tschopp J: "Inhibition of death receptor signals by cellular FLIP." *Nature* **1997**, 388:190-195

Issekutz TB: Lymphocyte homing to sites of inflammation. *Curr Opin Immunol* **1992**, 4(3): 287-293

Itoh N, Imagawa A, Hanafusa T, Waguri M, Yamamoto K, Iwahashi H, Moriwaki M, Nakajima H, Miyagawa J, Namba M, Makino S, Nagata S, Kono N, Matsuzawa Y: Requirement of Fas for the development of autoimmune diabetes in nonobese diabetic mice. *J Exp Med* **1997**, 186:613-618

J

Janssens U, Graf J: Was ist Schock. *Der Internist* **2004**, 45(3):258-266

Jonas Da, Abbassi O, McIntire Lv, Mc Ever Rp, Smith Cw: P-Selectin mediates neutrophil rolling on histamine stimulated endothelial cells. *Biophys J.* **1993**, 65(4):1560-9

Jordan JE, Zhao ZQ, Vinten-Johansen J: The role of neutrophils in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res* **1999**, 43:860-878

K

Kaminski KA, Bonda TA, Korecki J, Musial WJ: Oxidative stress and neutrophil activation-the two keystones of ischemia/reperfusion injury. *Int J Cardiol* **2002**, 86:41-59

Kampmann JP, Hansen JM: Glomerular filtration rate and creatinine clearance. *Br J Clin Pharmacol* **1981**, 12:7-14

Kasuya H, Onda H, Yoneyama T, Sasaki T, Hori T: Bedside monitoring of circulating blood volume after subarachnoid hemorrhage. *Stroke* **2003**, 34:956-60

Keller C, Geberth K: *Praxis der Nephrologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag **2007**, 30-36

Kier et al.: Das hämatopoetische System im Rahmen des Multiorganversagens. *Intensivmedizinisches Seminar Band 4: Multiorganversagen*. Wien –New York: Springer Verlag **1992**, 4:1-8

King KL, Cidlowski JA: Cell cycle regulation and apoptosis. *Annu Rev Physiol* **1998**, 60:601-17

Kischkel FC, Hellbardt S, Behrmann I, Germer M, Pawlita M, Krammer PH and Peter ME: Cytotoxicity-dependent APO-1 (Fas/CD95)-associated proteins form a death-inducing signaling complex (DISC) with the receptor. *EMBO J.* **1995**, 14:5579-5588

Kixmüller M: Labordiagnostische Referenzbereiche bei unterschiedlichen Schweinerassen sowie histopathologische und immunhistochemische Untersuchung von Gehirnen älterer Sauen und Eber auf transmissible spongiforme Enzephalopathie im Rahmen der TSE-Studie. *Diss Med Vet München* **2004**,35-62

Knichwitz G, Kruse C, van Aken H: Intestinale Perfusionsstörungen beim Intensivpatienten. *Der Anästhesist* **2005**, 54:41-48

Kobayashi N, Hamamoto Y, Yamamoto N, Ishii A, Yonehara M, Yonehara S: Anti-Fas monoclonal Antibody is cytotoxic to human immunodeficiency virus- infected cells without augmenting viral replication. *Proc Natl Acad Sci USA* **1990**, 87:9620-9624

Literaturverzeichnis

Kretz FJ, Schäffer J: Anästhesie, Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag 2006, 4:282-283

L

Larsen R: Anästhesie. München: Verlag Urban und Fischer 2009, 2:585-590

Lawin, P, Prien TH: Multiorganversagen. Anästh. Intensivther. Notfallmed. 1989, 24:197-198

Lenz A, Franklin GA, Cheadle WG: Systemic inflammation after trauma. Injury 2007, 38:1336-45

Ley K et al.: Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. Nature Reviews Immunology 7, 2007, S. 679

Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G: International Sepsis Definitions Conference 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. Intensive Care Med. 2003, 29:530-8

Lögters TT, Altrichter J, Paunel-Görgülü A, Sager M, Witte I I, Ott A, Sadek S, Baltés J, Bitu-Moreno J, Schek A, Müller W, Jeri T, Windolf J, Scholz M: 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. J Inflammation 2010, 20:7:18

Lomas JL, Chung CS, Grutkoski PS, LeBlanc BW, Lavigne L, Reichner J, Gregory SH, Doughty LA, Cioffi WG, Ayala A: Differential effects of macrophage inflammatory protein-2 and keratinocyte-derived chemokine on hemorrhage-induced neutrophil priming for lung inflammation: assessment by adoptive cell transfer in mice. Shock 2003, 19:358-365

Lorraine B, Ware MD, Michael A, Matthay D: The Acute Respiratory Distress Syndrome, N Engl J Med 2000, 342:1334-1349

Luther B: Intestinale Durchblutungsstörungen, Mesenterialinfarkt, Angina Abdominalis. Darmstadt: Steinkopff Verlag 2001, S. 45-75

M

Madl C, Fuhrmann V: Schockleber: Eine Hypoxie-bedingte zentrilobuläre Leberzell-nekrose. Intensiv-News 2007, 1:3-5

Maier B, Lefering R, Lehnert M, Laurer HL, Steudel WI, Neugebauer EA, Marzi I: Early versus late onset of multiple organ failure is associated with differing patterns of plasma cytokine biomarker expression and outcome after severe trauma. Shock 2007, 28:668-674

Malik AB, Lo SK: Vascular endothelial adhesion molecules and tissue inflammation. Pharmacol Rev 1996, 48(2):213-229

Marik PE, Baram M, Vahid B: Does central venous pressure predict fluid responsiveness? A systematic review of the literature and the tale of seven mares. Chest. 2008, 134(1):172-8

Marshall M, Lydtin H, Krawietz W, Hagen R, Schuckert G, Hess H, Zöllner N: Das Miniaturschwein als Versuchstier in der experimentellen Medizin. Research in Experimental Medicine 1972, Volume 157, Issue 4, pp 300-316

Martin C, Viviand X, Leone M, Thirion X: Effect of norepinephrine on the outcome of septic shock. Crit Care Med 2000, 28:2758-65

Literaturverzeichnis

Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M: The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* **2003**, 348:1546-54

Marzi I: Der hämorrhagische Schock. *Anästhesist* **1996**, 45:976-992

McCloskey CA, Kameneva MV, Uryash A, Gallo DJ, Billiar TR: Tissue hypoxia activates JNK in the liver during hemorrhagic shock. *Shock* **2004**, 24:488-494

McFadden D: Organ failure and multiple organ system failure in pancreatitis. *Pancreas* **1991**, 6:37-43

Meier-Hellmann A: Hämodynamische Stabilisierung in der Sepsis. *Anästhesiologie & Intensivmedizin* **2000**, 41:601-13

Meisner M, Tschakowsky K, Hutzler A, Schick C, Schuttler J: Postoperative plasma concentrations of procalcitonin after different types of surgery. *Intensive Care Med* **1998**, 24: 680-84

Melley DD, Evans TW, Quinlan GJ: Redox regulation of neutrophil apoptosis and the systemic inflammatory response syndrome. *Clin. Sci (Lond)*. **2005**,108:413-24

Mewis C, Spyridopoulos I, Reimer R: *Kardiologie kompakt*. Stuttgart: Thieme Verlag **2006**, 1:138-145

Morini S, Yacoub W, Rastellini C, Gaudio E, Watkins SC, Cicalese L: Intestinal microvascular patterns during hemorrhagic shock. *Dig Dis Sci* **2000**, 45:710-22

Müller-Bardoff M, Hallermayer K, Schroeder A, Ebert C, Borgya A, Gerhardt W, Rempiss A, Zehelein J, Katus H: Improved Troponin-T ELISA specific for cardiac Troponin-T isoform. assay development and analytical and clinical validation. *J Clin Chem* **1997**, 43:458-466

Murasawa T: Evaluation of cardiac function during hemopurification in patients with chronic renal failure. *Nihon Ika Daigaku Zasshi* **1989**, 56:329-38

Mutschler W, Haas NP: *Praxis der Unfallchirurgie*, Stuttgart: Thieme Verlag **2004**

N

Nagata S: Early work on the function of CD 95, an interview with Shige Nagat. *Cell death Differ* **2004**,11:23-7

Neumeier D, Prellwitz W, Sandel P, Knedel M: Untersuchungen zur Aktivitätskinetik des Isoenzymes CK-MB im Serum nach Myokardinfarkt. *J Molec Med* **1978**, 9:449-456

O

Oehm A, Behrmann I, Falk W, Pawlita M, Maier G, Klas C, Li-Weber M, Richards S, Dhein J, Trauth BC, et al.: Purification and molecular cloning of the APO-1 cell surface antigen, a member of the tumor necrosis factor/nerve growth factor receptor superfamily. Sequence identity with the Fas antigen. *J Biol Chem* **1992**, 267:10709-10715

Ott A: Untersuchung zum Einfluss des Leukozyten-Inhibitions-Moduls auf die posthämorrhagische Aktivierung von neutrophilen Granulozyten im Tiermodell, Dissertation Heinrich Heine Universität Düsseldorf, **2011**

P

Panteghini M: Aspartate aminotransferase isoenzymes. *Clin Biochem* **1990**, 211:311-9

Patrick DA, Moore FA, Moore EE, Barnett CC, Silliman CC: Neutrophil priming and activation in the pathogenesis of postinjury multiple organ failure. *New Horiz* **1996**, 4:194-210

Literaturverzeichnis

Paunel-Görgülü A, Zörnig M, Lögters T, Altrichter J, Rabenhorst U, Cinatl J, Windolf J, Scholz M: Mcl-1-mediated impairment of the intrinsic apoptosis pathway in circulating neutrophils from critically ill patients can be overcome by Fas stimulation. *J Immunol* **2009**, 183:6198-206

Paunel-Görgülü A, Flohé S, Scholz M, Windolf J, Lögters T: Increased serum soluble Fas after major trauma is associated with delayed neutrophil apoptosis and development of sepsis. *Critical care* **2011**, 15:R20

Peltz G: *Leukocyte recruitment in inflammatory disease*. New York: Springer Verlag, **1996**

Perel P, Roberts I, Ker K: Colloids versus crystalloids for fluid resuscitation in critically ill patients. *Cochrane Database Syst Rev*. **2013**, 28:2

Peter ME, Budd RC, Desbarats J, Hedrick SM, Hueber AO, Newell MK, Owen LB, Pope RM, Tschopp J, Wajant H, Wallach D, Wiltrout RH, Zörnig M, Lynch DH: The CD95 receptor: apoptosis revisited. *Cell* **2007**, 129:447-450

Peter ME, Krammer PH: The CD95(APO-1/Fas) DISC and beyond. *Cell Death Differ*. **2003**, 10:26-35

Pilewski JM, Albelda SM. Cell adhesion molecules in asthma: Homing, activation, and airway remodeling. *Am J Respir Cell Mol Biol* **1995**, 12(1):1-3

Q

Qureshi SS, Lewis SM, Gant VA, Treacher D, Davis BH, Brown KA: Increased distribution and expression of CD64 on blood polymorphonuclear cells from patients with the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). *Clin Exp Immunol*. **2001**, 125(2):258-65

R

Reinhart K, Brunkhorst FM, Bone HG, Bardutzky J, Dempfle CE, Mannheim H, Gerlach H, Gründling M, John S, Kern W, Kreymann G, Krüger W, Kujath P, Marggraf G, Martin J, Mayer K, Meier-Hellmann A, Oppert M, Putensen C, Quintel M, Ragaller M, Rossaint R, Seifert H, Spies C, Stüber F, Weiler N, Weimann A, Werdan, Welte: Diagnose und Therapie der Sepsis S-2 Leitlinien der Deutschen Sepsis-Gesellschaft e.V. (DSG) und der Deutschen Interdisziplinären Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin (DIVI), **2010**, 7-30, 35-40

Remmele W: *Pathologie, Rechtsfragen in der Pathologie, Einführung in die bioptische Diagnostik Herz und Gefäßsystem, Hämatologie, Milz, Thymus*. Springer Verlag **1999**, S. 310-312

Rensing H, Jaeschke H, Bauer I, Pätou C, Datene V, Pannen BH, Bauer M: 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* **2001**, 29:1962-1971

Rhee P, Burris D, Kaufmann C, Pikoulis M, Austin B, Ling G, Harviel D, Waxman K: Lactated Ringer's solution resuscitation causes neutrophil activation after hemorrhagic shock. *J Trauma*. **1998**, 44(2):313-9

Riede UN, Werner M, Freudenberg N: *Basiswissen Allgemeine und Spezielle Pathologie*. Berlin: Springer Verlag **2009**, 90-93

Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, Peterson E, Tomlanovich M: Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* **2001**, 345:1368-77

Rixen D, Siegel JH: Bench-to-bedside review: Oxygen debt and its metabolic correlates as quantifiers of the severity of hemorrhagic and post-traumatic shock. *Crit Care* **2005**, 9:441-53

Literaturverzeichnis

Rixen D, Raum M, Holzgraefe B, Sauerland S, Nagelschmidt M, Neugebauer EA: A pig hemorrhagic shock model: oxygen debt and metabolic acidemia as indicators of severity. *Schock* **2001**, 16(3):239-44

Roesner JP, Petzelbauer P, Koch A, Tran N, Iber T, Vagts DA, Scheeren TW, Vollmar B, Nöldge-Schomburg GE, Zacharowski K: Bbeta15-42 (FX06) reduces pulmonary, myocardial, liver, and small intestine damage in a pig model of hemorrhagic shock and reperfusion. *Crit Care Med* **2009**, 37:598-605

Rondeau E, Sraer J, Bens M, Doleris LM, Lacave R, Sraer JD: 5- lipoxygenase pathway metabolites by peripheral leukocytes in capillary leak syndrome (Clarkson disease). *Eur J Clin Invest* **1987**, 17: 53- 57

Rose SBD, Chandler J, Blum U, Dike J, Wierkinski A, Mutschler W: Respiratory failure in polytrauma patients: Role of altered PMNL-signal transduction and free radical injury. *Int Care Med* **1994**, 20:89

Rottbauer W, Greten T, Müller-Bardoff M, Remppis A, Zehelein J, Grünig E, Katus HA: Troponin-T: a diagnostic marker for myocardial infarction and minor cardiac cell damage. *Eur Heart J* **1996**, 17:3-8

Rowe PM: Glimmers of clinical relevance for Fas. *Lancet*. **1996**, 347:1398

Rüter A, Trentz O, Wagner M: Definition of Shock. München: Urban und Schwarzenberg **2004**, 1:5-6

S

Salmen S, Teran G, Borges L, Goncalvez L, Albarran B, Urdaneta H, Montes H, Berrueta L: Increased Fas-mediated apoptosis in polymorphonuclear cells from HIV-infected patients. *Clin Exp Immunol* **2004**, 137:166-172

Sato H, Tanaka T, Kasai K, Kita T, Tanaka N: Role of p38 mitogen-activated protein kinase on cardiac dysfunction after hemorrhagic shock in rats. *Shock* **2007**, 28:291-9

Sauer M, Altrichter J, Kreutzer HJ, Lögters T, Scholz M, Nöldge-Schomburg G, Schmidt R, Mitzner SR: Extracorporeal cell therapy with granulocytes in a pig model of Gram-positive sepsis. *Crit Care Med* **2009**, 37:606-13

Secchi A, Zigenfuß T, Checkliste Notfallmedizin. Stuttgart: Thieme Verlag **2009**, 256-259

Schauseil S, Burak S, Engels-Schwarzlose S, Geisel R, Herzum I, Kuschak D, Lutz T, Schroer KP: Kompendium Labormedizin und Mikrobiologie. Medizinische Laboratorien Düsseldorf, Ärztliche Apparategemeinschaft Düsseldorf Mitte (Hrsg.) **2009**, 21-36

Schek A: Untersuchungen zum Einfluss des Leukozyten-Inhibitions-Moduls auf die posthämorrhagische Inflammation und Gewebehypoxie im Tiermodell. Dissertation Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, **2010**

Schlattner U, Tokarska-Schlattner M, Wallimann T: Mitochondrial creatine kinase in human health and disease. *Biochim Biophys Acta* **2006**, 2:164-180

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: First efficacy and safety results with the antibody containing leukocyte inhibition module in cardiac surgery patients with neutrophil hyperactivity. *ASAIO J* **2005**, 51:144-147

Scholz M, Cinatl J, Schadel-Hopfner M, Windolf J: Neutrophils and the blood-brain barrier dysfunction after trauma. *Med Res Rev*. **2007**, 27:401-416

Literaturverzeichnis

- Scholz M, Simon A, Berg M, Schuller AM, Hacibayramoglu M, Margraf S, Theisen A, Windolf J, Wimmer-Greinecker G, Moritz A: In vivo inhibition of neutrophil activity by a FAS (CD95) stimulation module: Arterial in-line21 application in a porcine cardiac surgery model. *J Thorac Cardiovasc Surg* **2004**, 127:1735-1742
- Scholz M, Simon A, Matheis G, Dzembali O, Henrich D, Kleine P, Wimmer-Reinecker G, Moritz A: Leukocyte filtration fails to limit functional neutrophil activity during cardiac surgery. *Inflamm Res* **2002**, 51:363-8
- Scholz M, Cinatl J: Fas/FAS-L interaction: A novel immune therapy approach with immobilized biologicals. *Med Res Rev* **2005**, 25:331-342
- Schuller AM, Windolf J, Blaheta R, Cinatl J, Kreuter J, Wimmer-Greinecker G, Moritz A, Scholz M: Degradation of microvascular brain endothelial cell Beta-catenin after co-culture with activated neutrophils from patients undergoing cardiac surgery with prolonged cardiopulmonary bypass. *Biochem Biophys Res Commun* **2005**, 329(2):616-23
- Sharma K, Wang RX, Zhang LY, Yin DL, Luo XY, Solomon JC, Jiang RF, Markos K, Davidson W, Scott DW, Shi YF: Death the Fas way: Regulation and pathophysiology of CD95 and its ligand. *Pharmacology & Therapeutics* **2000**, 88(3):333-347
- Shinohara K: Systemic capillary leak syndrome caused by granulocyte colony-stimulating factor. *Inten. Med.* **2011**, 50:2259
- Siegenthaler W, Blum HE: *Klinische Pathophysiologie*. Stuttgart: Thieme Verlag **2006**, 683-694
- Simon A, Scholz M, Martens S et al.: Modified Leukocyte Filtration Timing Strategies during cardiac surgery with extracorporeal circulation: no evidence for clinical benefit. *Thorac cardiovasc surg* **2006**, 54-69
- Simon L, Gauvin F et al.: Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection. a systematic review and meta-analysis. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America.* **2004**, 39(2):206-217
- Silbernagel S, Lang F: *Taschenatlas der Pathophysiologie*. Stuttgart: Thieme Verlag **2013**, 246 - 250
- Sprick MR, Rieser E, Stahl H, Grosse-Wilde A, Weigand MA, Walczak H: Caspase-10 is recruited to and activated at the native TRAIL and CD95 death-inducing signaling complexes in a FADD-dependent manner but can not functionally substitute caspase-8. *Embo J* **2002**, 21:4520-22
- Springer TA: Traffic signals on endothelium for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration. *Annu Rev Physiol* **1995**, 57:827-872
- Stefan Grimm: *Die Apoptose: Programmierter Zelltod*. *Chemie in unserer Zeit* **2003**, 37(3):172-178
- Stohtert JC Jr, Simonowitz DA, Dellinger EP, Farley M, Edwards WA, Blair AD, Cutler R, Carrico CJ: Randomized prospective evaluation of cimetidine and antacid control of gastric pH in the critically ill. *Ann Surg* **1980**, 192:169-174
- Striebel HW: *Die Anästhesie*. Schattauer **2010**, 2:532-534
- Striebel HW: *Operative Intensivmedizin*. Schattauer **2008**, 2:467 - 470
- Stüber F, Wrigge H, Schroeder S, Wetegrove S, Zinserling J, Hoeft A, Putensen C: Kinetic and reversibility of mechanical ventilation-associated pulmonary and systemic inflammatory response in patients with acute lung injury. *Intensive Care Med* **2002**, 28:834-841
- Stubhan M: *Das Göttinger Minipig als Telemetriemodell für pharmakologische Zwecke*. *Diss Med Vet München* **2008**

Literaturverzeichnis

Stürmer K, Meenen M, Blauth M, Siebert H, Bonnaire F, Suren E, Braun W, Wittner, Stuttgart B, Dresing K: Deutsche Gesellschaft für Unfallchirurgie. Volumetherapie. S3 Leitlinie Polytrauma/Schwerverletzen-Behandlung (AWMF Register-Nr: 012/019). Thieme, Stuttgart, New York S. 30-34, **2011**

Suda T, Hashimoto H, Tanaka M, Ochi T, Nagata S: Membrane Fas ligand kills human peripheral blood T lymphocytes, and soluble Fas ligand blocks the killing. *J Exp Med* **1997**, 186:2045-2050

Suematsu M, Goda N, Sano T, Kashiwagi S, Egawa T, Shinoda Y, Ishimura Y: Carbon monoxide: an endogenous modulator of sinusoidal tone in the perfused rat liver. *J Clin Invest* **1995**, 96: 2431-2437

T

Tamion F, Richard V et al.: Induction of heme-oxygenase-1 prevents the systemic responses to hemorrhagic shock. *Am J Respir Crit Care Med*. **2001**,164:1933-1938

Tang M, Gu YJ, Wang WJ, Xu YP, Chen CZ: Effect of cardiopulmonary bypass on leukocyte activation: Changes in membrane-bound elastase on neutrophils. *Perfusion* **2004**, 19:93-99

Tedder TF, Steeber DA, Chen A, Engel P. The selectins: Vascular adhesion molecules. *Faseb J* **1995**, 9(10):866-873

Thijs LG, Groeneveld AB, Hack CE: Multiple organ failure in septic shock. *Curr Top Microbiol Immunol* **1996**, 216:209-37

Thomas C et al.: Spezielle Pathologie. München: Schattauer Verlag **1996**, 355-360

Toda Y, Takahashi T, Maeshima K, Shimizu H, Inoue K, Morimatsu H, Omori E, Takeuchi M, Akagi R, Morita K: A neutrophil elastase inhibitor, sivelestat, ameliorates lung injury after hemorrhagic shock in rats. *Int J Mol Med* **2007**, 19:237-43

V

Van Aken H, Reinhart K, Zimpfer M, Welte T: Intensivmedizin. Stuttgart: Thieme Verlag **2001**, 856-870

Van Meurs M, Wulfert FM, Knol AJ, De Haes A, Houwertjes M, Aarts LP, Molema G: Early organ-specific endothelial activation during hemorrhagic shock and resuscitation. *Shock* **2008**, 29:291-299

Von Engelhardt W Brewes G: Physiologie der Haustiere. Erlangen: Enke Verlag **2010**, 1:299-301

Von Adrian UH, Mackay CR: T-Cell Function and Migration. *NEJM*. **2000**, 343(14):1020-34

W

Walczak H, Kantari C: Caspase-8 and bid: caught in the act between death receptors and mitochondria. *Biochim Biophys Acta*. **2011**, 1813:558-63

Walczak H, Krammer PH: The CD 95 (Apo-1/Fas) and the Trail (Apo-2L) apoptosis systems. *Exp Cell Res* **2000**, 256:58-66

Wallimann T: The Phosphocreatine Circuit: Molecular and Cellular Physiology of Creatine Kinases, Sensitivity to Free Radicals, and Enhancement by Creatine Supplementation. *Molecular System Bioenergetics* **2007**, 1:270-275

Ware LB, Matthay MA: The Acute Respiratory Distress Syndrome. *NEJM*. **2000**, 342(18):1334-49

Weinstein RA, Bonten M: Infection control in the ICU Environment. *Perspectives on Critical Care Infectious Diseases* **2002**, 5:288

Literaturverzeichnis

Weiss SJ: Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med* **1989**, 320:365-276

Werdan K, Müller-Werdan U, Schuster HP: Sepsis und MODS. Springer **2005**, 4:3-77

Wesche DE, Lomas-Neira JL, Perl M, Chung CS, Ayala A: Leucocyte apoptosis and its significance in sepsis and shock. *J Leukoc Biol.* **2005**, 78:325-37

Witte I: Untersuchungen zum Einfluss des Leukozyten-Inhibitions-Moduls auf die posthämorrhagische Hämodynamik im Tiermodell. Dissertation Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf **2011**

Wolitzky BA: The role of E-selectin and P-selectin in inflammatory disease. Leukocyte recruitment in inflammatory disease. Springer Verlag New York **1996**, 211-245

Worth A, Thrasher AJ, Gaspar HB: Autoimmune lymphoproliferative syndrome: molecular basis of disease and clinical phenotype. *Br J Haematol.* **2006**, 133(2):124-40

WU AHB, Feng YJ, Moore R et al.: Characterization of cardiac troponin subunit release into serum after acute myocardial infarction and comparison of assays for Troponin-T and I. *Clin Chem* **1998**, 44:1198.1208

X

Xavier B, Esteban P, Josep MG: Rhabdomyolysis and Acute Kidney Injury. *New England Journal of Medicine.* **2009**, 361

Z

Zakaria R, Campbell JE, Peyton JC, Garrison RN: Postresuscitation tissue neutrophil infiltration is time-dependent and organ specific. *J Surg Res.* **2007**, 143:119-25

Zhu B, Luo L, Chen Y, Paty DW, Cynader MS: Intrathecal Fas ligand infusion strengthens immunoprivilege of central nervous system and suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* **2002**, 169:1561-9

Ziegenfuß T: Notfallmedizin. Berlin: Springer Verlag 4. Auflage, **2007**, 241-247

Zimmerman BJ, Granger DN: Mechanisms of reperfusion injury. *Am J Med Sci.* **1994**, 307: 284-92

8 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Ischämie-Reperfusionsschaden bei Dünndarmtransplantation	11
Abb. 2:	Das primäre und sekundäre MODS	14
Abb. 3:	Schematische Darstellung der Leukozytenmigration durch das Endothel	18
Abb. 4:	Der Apoptose Signalweg	21
Abb. 5:	Der makroskopische Aufbau des LIM Systems	22
Abb. 6:	Aufbau und Einsatz des LIM Systems in der Tierversuchsstudie	22
Abb. 7:	Schema zur Wirkungsweise des LIM Systems, schematisch erläutert	23
Abb. 8:	Zeitleiste der Versuchsreihe graphisch dargestellt	32
Abb. 9:	Extrakorporaler Kreislauf mit eingeschaltetem LIM	33
Abb. 10:	CK-Konzentration im Serum	40
Abb. 11:	CK-MB Konzentration im Serum	41
Abb. 12:	Troponin-T Konzentration im Serum	42
Abb. 13:	AST-Konzentration im Serum der SMC	43
Abb. 14:	ALT-Konzentration im Serum der SMC	44
Abb. 15:	Kreatinin Konzentration im Serum der SMC	45
Abb. 16:	PCWP Werte der SMC	47
Abb. 17:	MPAP Werte der SMC	49
Abb. 18:	Repräsentative, histologische Schnitte von Lunge, Herz, Niere, Leber , Darm	51

9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Die Klinische Einteilung des Schocksyndroms	3
Tabelle 2: Einteilung des Schock	8
Tabelle 3: Diagnosekriterien für Sepsis, schwere Sepsis und septischer Schock	13
Tabelle 4: Serumparameter	46
Tabelle 5: Hämodynamische Parameter im Zeitverlauf	50
Tabelle 6: Quotient aus den angegebenen Mittelwerten CK-MB/CK in %	64

Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. J. Windolf, dem Direktor der Klinik für Unfall- und Handchirurgie der Heinrich-Heine-Universität in Düsseldorf und Herrn Prof. Dr. phil. nat. M. Scholz die mich durch viele Jahre über im Rahmen meiner Forschungsarbeit begleitet und fachlich sowie menschlich unterstützt haben. Ohne das Team der LIM-Gruppe (Tim Loegters, Annina Ott, Jessica Baltes, Ingo Witte, Alberto Schek, Jutta Schneider, Samira Seghrouchni und Frau Dr. rer. nat. Adnana Paunel-Görgülü) hätte diese Forschungsarbeit nur halb soviel Spaß gemacht und wäre somit an vielen Punkten gescheitert.

Ein Dank gilt ebenfalls dem gesamten Team der TVA der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Herrn Dr. Sager, Frau Dr. Engelhardt und Frau Schrey sowie allen Mitarbeitern.

Ich möchte an dieser Stelle allen danken die mir bei der Erstellung dieser Arbeit tatkräftig zur Seite gestanden haben. Der Dank gilt ganz besonders meinen Eltern und meinem Bruder sowie meiner ganzen Familie die nie die Hoffnung an die Vollendung dieser Arbeit verloren haben und mir über viele Jahre hinweg Mut zu gesprochen haben. Auch möchte ich meinen Freundinnen für die Motivation, Liebe und Aufmunterung danken. Für die tatkräftige Unterstützung bin ich besonders Frau Samira Seghrouchni, Frau Jutta Schneider, Frau Prof. Dr. rer. nat. Adnana Paunel-Görgülü zu tiefst verbunden.

Herrn Dr. U. Pontenagel danke ich für die vielen Korrekturlesungen und die Begleitung in der schweren End-Phase dieser Dissertation. Ohne ihn wäre der Mut zur Vollendung verloren gegangen.

Diese Arbeit widme ich meinen Eltern, meinem Bruder und meiner ganzen Familie ohne die ich niemals erreicht hätte was ich mir zum Ziel gesetzt habe.

Eidesstattliche Versicherung:

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation selbständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erstellt worden ist und die hier vorgelegte Dissertation nicht von einer andere medizinischen Fakultät abgelehnt worden ist.

17.05.2014, Sarah Sadek