

Aus der Klinik für Allgemein-, Viszeral-, Gefäß- und
Transplantationschirurgie

der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Jens Werner

**Endotoxinaktivität und deren Auswirkung auf
immunologische Parameter im Verlauf nach schwerer
Verbrennungsverletzung und Polytrauma**

Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Caroline Mögele-Schmid, geb. Mögele

aus

München

2018

**Mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Eugen Faist

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Josef Briegel

PD Dr. med. Viktoria Bogner-Flatz

Mitbetreuung durch den

promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Heiko Trentzsch

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 28.06.2018

Meiner Familie in Liebe gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG UND HINTERGRUND	1
1.1. Polytrauma	1
1.2. Verbrennungstrauma	2
1.3. SIRS, Sepsis und Organversagen.....	4
1.4. Pathophysiologie von Verbrennungs- und Polytrauma	7
1.5. Endotoxin	8
1.6. Parameter der klinischen Routine.....	11
1.6.1. C-reaktives Protein.....	11
1.6.2. Leukozyten	11
1.6.3. Laktat	12
1.7. Klinisch-experimentelle Parameter	13
1.7.1. Lipopolysaccharid-bindendes Protein.....	13
1.7.2. HMGB-1.....	14
1.7.3. PMN-Elastase	15
1.7.4. Cathepsin X	15
1.7.5. Neopterin	16
1.7.6. HLA-DR	16
1.8. Fragestellung	17
2. PATIENTEN, MATERIAL UND METHODEN	19
2.1. Patienten	19
2.1.1. Ein- und Ausschlusskriterien	19
2.1.2. angewandte Scoringsysteme	20
2.1.2.1. SAPS II	20
2.1.2.2. RISC - Überlebensprognose für Polytraumapatienten	20
2.1.2.3. ABSI - Überlebensprognose für Schwerbrandverletzte.....	21
2.1.2.4. SOFA	22
2.1.2.5. Kriterien für das Vorliegen eines Systemischen Inflammatorischen Response Syndroms (SIRS) - sog. Bone-Kriterien	23

INHALTSVERZEICHNIS

2.1.3.	Klinische Datengewinnung, Dokumentation und Beurteilung des Klinischen Verlaufs	23
2.1.4.	Probengewinnung	24
2.2.	Verwendete Geräte und Materialien	24
2.2.1.	Endotoxin Activity Assay	24
2.2.2.	Durchflusszytometrie	25
2.2.3.	LBP-Messung	25
2.2.4.	HMGB-1-Messung	26
2.2.5.	Plasmabank	26
2.2.6.	Urinbank	26
2.3.	Methoden	26
2.3.1.	Endotoxin Activity Assay	26
2.3.2.	Durchflusszytometrie	29
2.3.3.	LBP-Messung	30
2.3.4.	HMGB-1 -Messung	30
2.3.5.	Cathepsin X-Messung	31
2.3.6.	PMN-Elastase-Messung	31
2.3.7.	Neopterin-Messung	31
2.3.8.	Plasmabank	32
2.3.9.	Urinbank	32
2.4.	Statistische Auswertung	32
3.	ERGEBNISSE	33
3.1.	epidemiologische Daten	33
3.2.	Übersicht über die Ergebnisse	34
3.3.	Endotoxinaktivität	36
3.4.	LBP	39
3.5.	CRP	40
3.6.	Leukozyten	41
3.7.	Laktat	43

INHALTSVERZEICHNIS

3.8.	HMGB-1	44
3.9.	Cathepsin X.....	45
3.10.	PMN-Elastase	46
3.11.	Neopterin/Kreatinin Quotient.....	48
3.12.	HLA-DR.....	49
3.13.	Korrelation zwischen der Endotoxinaktivität und den weiteren untersuchten Parametern...	51
3.13.1.	Übersicht	51
3.13.2.	LBP.....	53
3.13.3.	CRP	53
3.13.4.	Leukozyten	54
3.13.5.	Laktat.....	55
3.13.6.	HMGB-1.....	55
3.13.7.	Cathepsin X.....	56
3.13.8.	PMN-Elastase	57
3.13.9.	Neopterin/Kreatinin Quotient.....	57
3.13.10.	HLA-DR	58
4.	DISKUSSION	59
4.1.	Scores, SIRS, Sepsis und MOV	59
4.2.	Endotoxin	61
4.3.	LBP	64
4.4.	CRP	65
4.5.	Leukozyten	66
4.6.	Laktat.....	67
4.7.	HMGB-1.....	68
4.8.	Cathepsin-X	70
4.9.	PMN-Elastase	70
4.10.	Neopterin/Kreatinin Quotient.....	71
4.11.	HLA-DR.....	72

INHALTSVERZEICHNIS

4.12. Schlussfolgerung.....	73
5. ZUSAMMENFASSUNG.....	76
6. TABELLENVERZEICHNIS.....	79
7. ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	80
8. LITERATURVERZEICHNIS	81
9. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	90
10. DANKSAGUNG.....	93
11. EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG.....	94

1. EINLEITUNG UND HINTERGRUND

1.1. POLYTRAUMA

Schwere Verkehrs-, Arbeits- oder Sportunfälle gehören zum täglichen Aufgabengebiet in der Notfallmedizin. Sie gehen häufig mit komplexen Verletzungen einher, welche oftmals mehr als eine Körperregion betreffen und nicht selten lebensbedrohlich sind. Im weiteren Krankheitsverlauf stehen den Patienten häufig ein langer stationärer Aufenthalt, langwierige Rehabilitationsmaßnahmen und trotz allem teils bleibende schwerwiegende Einschränkungen im täglichen Leben bevor. So wird die Verletzung von mindestens zwei Körperregionen oder Organsystemen, von denen mindestens eine oder deren Kombination lebensbedrohlich ist, als Polytrauma bezeichnet [1] und ist über einen ISS (Injury Severity Score) > 15 Punkten als Ausdruck der Verletzungsschwere definiert [2].

Der Injury Severity Score [3] errechnet sich dabei aus den Schweregraden der Einzelverletzungen nach der Abbreviated Injury Scale (AIS) [4]. Jede Verletzung wird dabei einem Schweregrad zwischen 0 (keine Verletzung) bis 6 (maximal, gegenwärtig nicht behandelbar) zugeordnet. Es werden insgesamt 6 anatomische Körperregionen (Kopf und Nacken, Gesicht, Thorax, Abdomen, Extremitäten sowie Weichteil/Gewebe) unterschieden. Die Schweregrade der drei am schwersten verletzten Körperregionen werden jeweils quadriert. Ihre Summe ergibt den ISS-Wert. Der maximal erreichbare ISS liegt somit bei 75 Punkte (5^2 Region 1 + 5^2 Region 2 + 5^2 Region 3). Falls der Patient in einer Körperregion 6 Punkte erhält, wird die Gesamtpunktzahl automatisch auf 75 gesetzt.

Nach einer neuen Definition aus 2014 (sog. „Berlin Definition“) wird das Polytrauma als relevante Verletzung mit AIS ≥ 3 von mindestens zwei Körperregionen und dem zusätzlichen Vorhandensein mindestens eines pathologischen Wertes der physiologischen Parameter (Alter (>70 Jahre), Hypotension (RRsyst <90 mmHg), Bewusstseinsstörung (Glasgow Coma Scale (GCS) am Unfallort ≤ 8), Azidose (BE ≤ -6 mmol/l), Koagulopathie (PTT ≥ 40 Sek., INR $\geq 1,4$)) beschrieben [5]. In einem von Paffrath et al. veröffentlichten Artikel wurde die Definition eines Polytraumas über mindestens zwei schwergradig verletzte Körperregionen (AIS ≥ 3) kritisch gesehen, da in einer Untersuchung der Daten des TraumaRegisters der DGU (Deutsche Gesellschaft für Unfallchirurgie) die höchste Sterblichkeit aller Subgruppen bei jenen Patienten mit sehr schwerem Monotrauma (AIS 4 oder 5, ggf. mit leichtgradiger Verletzung einer zweiten Körperregion) zu messen war; das Vorhandensein mindestens eines physiologischen Risikofaktors ergab auch in seiner Untersuchung eine deutlich ansteigende Mortalität.

EINLEITUNG UND HINTERGRUND

2014 wurden in Deutschland ca. 31.000 Polytraumapatienten im TraumaRegister der DGU registriert, wobei davon ca. 70% Männer waren, die Patienten im Durchschnitt 50,9 Jahre alt waren, 54% (ca. 16.800) einen ISS ≥ 16 Punkten hatten und die Letalität bei 10,8% lag. Legt man die Berliner Definition zu Grunde waren es ca. 4.500 Patienten [6]. Wobei die Gesamtzahl lt. Debus et al. noch etwas höher liege; für 2012 nimmt er zwischen 18.200-18.400 Patienten mit einem ISS ≥ 16 an [7]. Der Anteil männlicher Patienten wird bei Regel et al. mit 65% bis 80% angegeben [8]; besonders häufig ist die Altersgruppe der 20 bis 30 Jährigen betroffen, so dass es auch die häufigste Todesursache der unter 40-Jährigen darstellt. Meistens handelt es sich um stumpfe Verletzungen (ca. 95%) als Folge von Verkehrsunfällen [9]. Ein weiterer Unfallmechanismus ist der Sturz aus großer Höhe, bei Fallhöhen größer drei Meter, wobei neben der Höhe, hier die Beschaffenheit des Untergrundes die Schwere der Verletzungen bestimmt. Den kleineren Teil nehmen in Deutschland mit ca. 5% die penetrierenden Verletzungen ein. Sie können durch Stichwaffen oder andere scharfe Instrumente, Schusswaffen oder Pfählungsverletzungen verursacht werden. Die polytraumatisierten Patienten weisen zum Teil sehr heterogene Verletzungsmuster auf, was durch die sehr unterschiedlichen Unfallhergänge begründet sein kann. Die häufigsten Verletzungen sind: ca. 60% Schädel-Hirn-Verletzungen bzw. Thoraxverletzungen, 30% Wirbelsäulenverletzungen und ebenso je ca. 30% Extremitätenverletzungen an Armen bzw. Beinen [10].

1.2. VERBRENNUNGSTRAUMA

In der Bundesrepublik Deutschland müssen jährlich ca. 10.000 bis 15.000 Patienten mit thermischen Verletzungen stationär behandelt werden, von denen etwa 10% intensivmedizinische Therapie benötigen; zwei Drittel der Verbrennungsunfälle ereignen sich im häuslichen Bereich, bei 5-10% der Unfälle liegt ein Suizidversuch oder ein Gewaltverbrechen vor [11]. Es werden Verbrennungsverletzungen thermischer und nicht-thermischer Genese unterschieden. Verletzungen thermischer Genese sind direkte (Explosion) und indirekte (brennende Kleidung) Verbrennungen, sowie Verbrühungen und Kontaktverbrennungen durch z.B. flüssiges Metall. Als Ursachen nicht-thermischer Genese kommen chemische (Säuren, Laugen), elektrische (Starkstrom), strahlungsbedingte und toxische (Lyell-Syndrom) Auslöser in Betracht [11]. Das Ausmaß der Verbrennung kann Anhand der Neuner-Regel nach A. B. Wallace [12] abgeschätzt werden, wobei dabei grundsätzlich nur zweit- und drittgradige Verbrennungen berücksichtigt werden (Abbildung 1).

EINLEITUNG UND HINTERGRUND

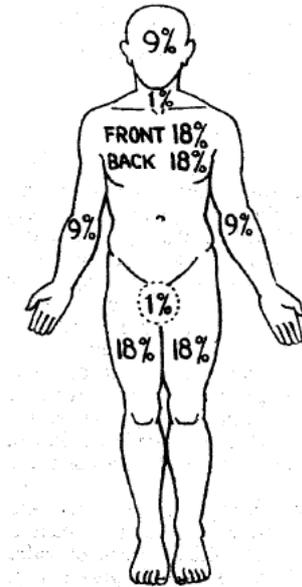


Abbildung 1 „Neuner-Regel“ nach Wallace: der Kopf und ein Arm nehmen jeweils 9% der Körperoberfläche ein; ein Bein, sowie Oberkörpervorder- oder Rückseite jeweils 2x9% und 1% entfällt auf die Genitalregion; aus [12]

Die Tiefe der Verbrennung ist von der Höhe und der Einwirkdauer der Temperatur abhängig. Die Verbrennungstiefe wird in 4 Grade unterteilt (Tabelle 1) [13]: die rein auf die Epidermis beschränkte, erstgradige Verbrennung ist durch Rötung, Juckreiz und Schmerzen gekennzeichnet und heilt ohne Narbenbildung ab. Zweitgradige Verbrennungen betreffen die Dermis. Sie sind aufgrund der freiliegenden Nozizeptoren extrem schmerzhaft und zeigen eine typische Blasenbildung. Bei der IIa-Verbrennung ist die Perfusion tiefer Hautschichten erhalten, so dass ein durchbluteter Wundgrund sichtbar ist, der auf Glasspateldruck weiß wird. Dagegen zeigt sich bei IIb-Verbrennungen ein nichtwegdrückbares Erythem mit weißen Arealen als Zeichen tiefer Nekrosen und Kapillarschädigungen. IIa-Verbrennungen können spontan abheilen, während ab IIb-Verbrennungen eine chirurgische Entfernung des verbrannten Gewebes erforderlich und meist mit Narbenbildung zu rechnen ist. Drittgradige Verbrennungen mit Zerstörung der gesamten Dermis sind schmerzfrei und zeigen einen avaskulären, weiß-bräunlichen Wundgrund. Sind Subkutis, Muskeln oder Sehnen betroffen, spricht man von viertgradigen Verbrennungen (Verkohlung).

EINLEITUNG UND HINTERGRUND

Tabelle 1 Einteilung der Verbrennungsschwere anhand von Grad I bis IV, nach [11]

Verbrennungs-grad	Schädigungs-tiefe	Klinisches Bild	Therapie	Heilung
I	rein epidermal	Rötung, Juckreiz, brennender Schmerz	konservativ	ohne Narbenbildung
Ila	oberflächlich dermal	Blasen, extremer Schmerz, wegdrückbares Erythem des Wundgrundes	konservativ	
Ilb	tief dermal	Blasen, extremer Schmerz, nichtwegdrückbares Erythem mit weißen Arealen im Wundgrund	meist operativ	mit Narbenbildung
III	bis in die Subkutis reichend	schmerzlos, avaskulärer weiß-bräunlicher Wundgrund, Lösen der Haare	operativ	
IV	Beteiligung von Muskeln, Sehnen, Knochen	Verkohlung	operativ	Defektheilung

Eine häufige Begleitverletzung ist das Inhalationstrauma (IHT). Durch die Inhalation von Rauchgas kommt es zu thermischen und chemischen Schäden der Atemwegsepithelien sowie zu Intoxikationen durch Kohlenmonoxid (CO) und seltener durch Zyanid [11]. Es ist die Todesursache von 80% der am Brandort Verstorbenen und liegt bei 25% aller lebend in die Klinik gebrachten Schwerbrandverletzten vor [14].

1.3. SIRS, SEPSIS UND ORGANVERSAGEN

Nach schwerem Trauma (Polytrauma bzw. Verbrennungen) aber auch nach Operationen oder Infektionen kann sich eine lokale Entzündung auf den gesamten Organismus ausweiten und so zu einer generalisierten Entzündungsreaktion des Körpers führen – dem sogenannten SIRS (systemic inflammatory response syndrome). Es stellt die Reaktion des Körpers auf ein schweres Ereignis infektiöser oder auch nicht infektiöser Art dar. Mögliche nicht-infektiöse Ursachen sind Verbrennungen, schwere Verletzungen, hämorrhagisch-nekrotisierende Pankreatitis, Ischämie, hämorrhagischer Schock und anaphylaktoide Reaktionen [15]. Im Rahmen des Entzündungsprozesses werden dendritischen Zellen (Monozyten, Makrophagen, Kupfer-Sternzellen und Alveolarmakrophagen) als Teil des unspezifischen Immunsystems durch Bestandteile von Bakterien, Viren, Pilzen oder Parasiten sowie auch durch Zellstrukturen, die bei der Verletzung oder Zerstörung körpereigener Zellen freigesetzt werden, aktiviert. Als PAMPs (pathogen-associated

EINLEITUNG UND HINTERGRUND

molecular patterns) werden bestimmte Strukturen oder Moleküle von Mikroorganismen bezeichnet, die charakteristisch für diese sind und über die sie vom Immunsystem erkannt werden [16]. Das sind zum Beispiel LPS (Lipopolysaccharid), Lipoproteine, Flagellin, Peptidoglykane, DNA (Desoxyribonukleinsäure) oder RNA (Ribonukleinsäure) aus Bakterien, Pilzen oder Viren [16, 17]. Die endogenen Faktoren, die bei Gewebeerstörung und nekrotischem Zellerfall im Blut zu finden sind, werden DAMPs (damage-associated molecular patterns) oder Alarmine genannt [16]. Zu ihnen zählen viele unter physiologischen Bedingungen im Zellkern oder Zytosol lokalisierte Proteine, wie HMGB-1 (high-mobility-group-box 1), S100, Hitzeschockproteine, Matrix Proteine und Nukleotide, wie z.B. ATP (Adenosintriphosphat) [17-19]. Die exogenen PAMPs und endogenen DAMPs binden an die gleichen zellulären Rezeptoren, die als pattern recognition receptors (PRRs) bezeichnet werden; zu den am meisten erforschten Vertretern gehören die TOLL-ähnliche Rezeptoren (toll-like receptors TLR) [17, 20]. Sie interagieren mit den von Makrophagen, Monozyten und neutrophilen Granulozyten an ihrer Oberfläche exprimierten CD14 (cluster of differentiation) Rezeptoren. So bindet zum Beispiel LPS aus gram-negativen Bakterien an dem CD14/TLR4/MD-2 (myeloid differentiation) Rezeptor [16]. Die dendritischen Zellen sezernieren ihrerseits unter anderem proinflammatorischen Zytokine wie Interleukin 1 (IL), IL-6, IL-8 und TNF- α (Tumornekrosefaktor), die auf lokale Zellen immunmodulatorisch wirken und u.a. so die Freisetzung von Stickstoffmonoxid, Prostaglandinen, Leukotrienen und Sauerstoffradikalen oder die Adhärenz von Granulozyten an das Endothel fördern. Werden sie in großen Mengen ausgeschüttet, so kommt ihre Wirkung im gesamten Organismus zum Tragen und resultiert im klinischen Bild einer systemischen Entzündungsreaktion. Im Rahmen einer Konsensuskonferenz verständigte man sich darauf, dass dieser Zustand anhand der folgenden Befunde festgemacht werden kann [21]: Tachykardie, Tachypnoe, Temperaturschwankungen und abnorme Leukozytenzahlen im Blutbild (Tabelle 2). Die Diagnose eines SIRS wird gestellt, wenn mindestens zwei der genannten Kriterien (sog. Bone-Kriterien) erfüllt sind [22].

Tabelle 2 Bone-Kriterien zur Diagnose eines SIRS, nach [21]

Kriterien	Grenzwerte
Körpertemperatur	> 38,0 °C oder < 36,0 °C
Herzfrequenz	> 90/min
Atemfrequenz oder pCO ₂	> 20/min < 32 mmHg
Leukozyten oder unreife Neutrophile	> 12000/ μ l oder < 4000/ μ l > 10%

EINLEITUNG UND HINTERGRUND

Als Folge einer die Inflammation begrenzenden Gegenantwort kann es zu einer Beeinträchtigung des Immunsystems kommen, das von einigen Autoren als CARS (compensatory anti-inflammatory response syndrome) bezeichnet wird [23]. Hierbei werden antiinflammatorische Zytokine, wie z.B. IL-4, IL-10, Rezeptoren für TNF und Rezeptorantagonisten des IL-1, T-Zell vermittelt (TH2) freigesetzt, die ein Überschießen der proinflammatorischen Antwort hemmen sollen („negatives Feedback“), indem sie die monozytäre Antigenpräsentation (über verminderte HLA-DR Expression) reduzieren und die Aktivität der B- und T-Lymphozyten (verminderte Mediatorensynthese) hemmen [24]. In Folge der Immunsuppression können sich Infektionen leichter entwickeln, die ihrerseits wiederum eine Entzündungsreaktion auslösen können. Unter der Vorstellung, dass sich im weiteren Verlauf SIRS und CARS abwechseln bzw. auch teilweise überlappen propagierte Bone einen Zustand, den er MARS (mixed antagonists response syndrome) nannte [25]. Heute wissen wir jedoch, dass die antiinflammatorische Antwort parallel zur proinflammatorischen Antwort abläuft. Ein Wechsel von reinen pro- oder antiinflammatorischen Phasen scheint nicht der physiologischen Realität zu entsprechen. Vielmehr handelt es sich um gleichzeitig stattfindende Prozesse, bei denen jedoch im Rahmen einer Dyshomöostase die eine oder die andere Komponente messtechnisch die Oberhand bekommt [26, 27].

Eine Sepsis liegt bei dem klinischen Bild eines SIRS mit positivem Keimnachweis (Bakterien, Viren, Pilze) in Blutkulturen, Abstrichen, etc. oder dem Verdacht einer Infektion vor. Der Begriff „schwere Sepsis“ ist eine Sepsis, die mit Organdysfunktion assoziiert ist. Besteht dabei eine volumenrefraktäre Hypotension und eine Hypoperfusion, so spricht man von einem septischen Schock [25].

Aus einem schweren SIRS oder einer Sepsis kann sich durch die überschießende Immunantwort das Multiorgandysfunktionssyndrom (MODS) bis hin zum Multiorganversagen (MOV oder MOFS = multi organ failure syndrome) entwickeln. Eine weitere Ursache für ein Organversagen kann jedoch auch in einem direkten Schaden am Organ liegen, der durch das Trauma verursacht wurde, wie zum Beispiel Lungenkontusionen, Leber- oder Milzrisse. Das MOV kann in zwei Phasen, ein frühes (bis Tag 3 nach Trauma) und ein spätes unterschieden werden. Nach dieser modelhaften Vorstellung resultiert das frühe MOV aus einer überschießenden Immunantwort im Rahmen des SIRS bzw. als Folge des Schocks und der direkten Organschädigung; das späte MOV entwickelt sich in Folge einer Infektion, deren Auftreten durch das im Rahmen der posttraumatischen Immunsuppression geschwächtem Immunsystem begünstigt wird [28].

Kurz vor Fertigstellung dieser Arbeit wurde mit SEPSIS-3 eine Überarbeitung und Neuauflage des internationalen Konsensus veröffentlicht [29]. In der Definition wird Sepsis

EINLEITUNG UND HINTERGRUND

als eine lebensbedrohliche Organfunktionsstörung auf der Basis eines Infektes definiert. Das Kontinuum von SIRS, Sepsis, schwerer Sepsis und septischem Schock wurde verlassen. Mit der neuen Definition werden nun Patienten erfasst, die eine deutlich höhere Krankheitsschwere aufweisen. Diese neue Definition schließt die Möglichkeit einer nicht-infektbedingter Inflammation z.B. als Folge von schwerem Trauma aber nicht mit ein, weshalb diese Aktualisierung für diese Untersuchung von nachgeordneter Bedeutung zu sein scheint.

1.4. PATHOPHYSIOLOGIE VON VERBRENNUNGS- UND POLYTRAUMA

Auch wenn es unterschiedliche Ursachen hat, so laufen nach einem Verbrennungs- und Polytrauma ähnliche physiologische Prozesse im Körper ab. Beide Traumata haben einen schweren Schock zur Folge. Bei den Verbrennungspatienten kommt es zu einem sogenannten Verbrennungsschock, welcher primär ein Volumenmangelschock durch Störung der Kapillarpermeabilität ist und bei den Polytraumapatienten meist zu einem hämorrhagischen Schock aufgrund offener bzw. geschlossener Frakturen, der Verletzung innerer Organe oder großer Gefäße; des Weiteren kommt es durch das Trauma selbst zu einer direkten Schädigung des Gewebes. Im Folgenden kann es bei beiden Patientengruppen zu einem SIRS (s. 1.3) kommen, welches durch die Aktivierung des Gerinnungs- und Komplementsystems, sowie der Freisetzung von Mediatoren wie Zytokinen, Leukotrienen, Histamin, O₂-Radikalen und Prostaglandinen ausgelöst wird. Diese können eine Störung der Kapillarpermeabilität auslösen, wodurch Proteine in den Extravasalraum verloren gehen und so den gleichzeitigen, osmotisch bedingten Ausstrom von Wasser fördern. Als Folge resultiert eine massive interstitielle Ödembildung [11, 30]. Bei Verbrennungen von mehr als ca. 20% verbrannter Körperoberfläche (VKOF) tritt dieses Kapillarleck generalisiert auch in nichtverbrannten Körperarealen auf [11], wodurch sich der Schock durch intravasalen Volumenmangel noch verstärken kann. Durch den Verlust bzw. Verbrauch von Gerinnungsfaktoren, der disseminierten intravasalen Gerinnung (DIC) und der Hypothermie kann es zu Gerinnungsstörungen kommen [11]. Ein massiver Zellerfall kann eine schwere Hyperkaliämie auslösen [11]. Aufgrund eines verminderten zellulären Sauerstoffangebots (durch die herabgesetzte Perfusion und den verminderten Hämoglobingehalt) kommt es in den betroffenen Geweben zum anaeroben Stoffwechsel mit Laktatbildung und Azidose. Wenn die zunehmende Gewebesauerstoffschuld nicht getilgt werden kann, kommt es zur Entwicklung eines dekompenzierten Schocks mit Organdysfunktion und konsekutivem MOV [17, 30].

EINLEITUNG UND HINTERGRUND

Die systemische Hyperinflammation bedingt aber auch eine kompensatorische Antiinflammation, die zu messbaren Funktionsstörungen des Immunsystems führt. Aufgrund der Suppression der Immunabwehr durch das Trauma selbst mit Hypoxie, Hypotonie und direktem Gewebeschaden („first hit“) werden Infektionen begünstigt, die sich systemisch in Form einer Sepsis manifestieren können [31]. Neben der Kolonisation der großen Wundflächen, insbesondere bei Verbrennungspatienten, kommen als häufiger Infektionsfokus bei beatmeten Patienten oder bei Patienten mit IHT auch Pneumonien in Betracht. Darüber hinaus treten wie bei anderen septischen Patienten Bakteriämien infolge von Katheterinfekten und von Translokationen aus dem Gastrointestinaltrakt auf. Im Sinne eines „second hit“ können die o.g. Faktoren, sowie erneute Operationen, Hypotension oder Blutverlust eine erneute Sepsis mit MOV begünstigen [31-33].

Neben den generalisierten pathophysiologischen Veränderungen kommt es je nach Unfallmechanismus zu verletzungsbedingten Einschränkungen der Organfunktion. So behindern zum Beispiel Lungenkontusionen oder Rippenserienfrakturen den pulmonalen Gasaustausch, außerdem können Leber- oder Milzrisse massiven Blutverlust nach sich ziehen und so im Weiteren eine Verbrauchskoagulopathie bzw. verminderte Syntheseleistung der Gerinnungsfaktoren durch eine Leberfunktionsstörung aufgrund des Gewebeuntergangs zur Folge haben; außerdem kann, insbesondere bei bestehender Nierenfunktionseinschränkung, die Freisetzung des Myoglobins aus zerstörten Muskelzellen bei ausgedehntem Weichteiltrauma zu einem Crush-Syndrom der Nieren führen.

1.5. ENDOTOXIN

Endotoxin, auch Lipopolysaccharid (LPS) genannt, ist ein Bestandteil der Zellwand gramnegativer Bakterien (u.a. Neisseria, Pseudomonas, Haemophilus, Legionella, Enterobacteriaceae, wie Escherichia Coli, Enterobacter, Klebsiella, Serratia, Shigella, Salmonella und Proteus) und wird beim Zerfall dieser Bakterien freigesetzt [34]. Es besteht aus drei Teilbereichen, die miteinander verbunden sind (Abbildung 2) [35]. Den inneren Bereich bildet das Lipid A, das in der äußeren Membran der Bakterien verankert ist. Ihm wird die toxische Wirkung zugeschrieben. Kovalent ist mit diesem das Core-Oligosaccharid verbunden. Es ist aus mehreren 2-Keto-3-Desoxyoctansäuremolekülen und Heptosemolekülen zusammengesetzt. Nach außen ist das O-Polysaccharid gebunden, welches in seiner Struktur stark variiert und so für die Stereotypcharakterisierung einzelner Bakterien herangezogen werden kann [35].

EINLEITUNG UND HINTERGRUND

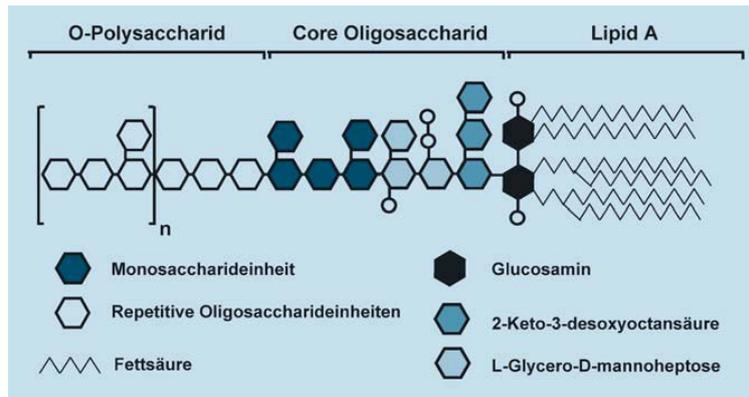


Abbildung 2 Struktur des LPS; aus [35]

Endotoxin scheint eine wesentliche pathogene Bedeutung bei der Entwicklung einer gram-negativen Sepsis zu haben. Die durch LPS induzierte Entzündungsreaktion entspricht in vielerlei Hinsicht der klinischen Reaktion auf bakterielle Infektionen und wird zum Beispiel in Zell- oder Tierversuchen als Modell für eine Sepsis eingesetzt. Die niedrig dosierte Injektion von LPS (4ng/kg KG) bei gesunden Freiwilligen führte bereits zu Tachykardie, Fieber, Leukozytose, Anstieg der Konzentrationen von TNF- α , Cortisol und Adrenalin im Blut [36], zu einer Beeinträchtigung der myokardialen Funktion einhergehend mit einer Abnahme des arteriellen Druckes und des peripheren Gefäßwiderstandes [37] sowie zu Veränderungen des Gerinnungssystems (initial Aktivierung der Fibrinolyse durch Anstieg der t-PA Konzentration und im Verlauf prokoagulatorischen Phase über Anstieg der Plasminogenaktivator-Inhibitor Konzentration) [38]. Die Haupteffektorzellen, die durch Endotoxin aktiviert werden, sind die Monozyten und Makrophagen, deren Produktion von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen wesentlich zu den beobachteten Symptomen beiträgt. LPS bindet über LBP (LPS-bindendes Protein) an den CD14 Rezeptor der Monozyten oder Makrophagen (Abbildung 3). Der durch den TLR4/CD14/MD-2 Rezeptor ausgelöste Signaltransduktionsweg endet in einer Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B, der seinerseits die Genexpression von verschiedenen proinflammatorischen Zytokinen, insbesondere TNF- α und IL-1, initiiert [35]. Diese aktivieren ihrerseits weitere Leukozyten und modulieren so die Synthese und Expression weiterer sowohl pro- als auch antiinflammatorischer Zytokine, die Freisetzung von Stickstoffmonoxid, Prostaglandinen, Leukotrienen und Sauerstoffradikalen oder die Adhärenz von Granulozyten an das Endothel [35]. Dies unterliegt einer schnellen Kinetik. Nach der Applikation von LPS lässt sich z.B. ein Anstieg des TNF- α Spiegels mit einem Maximum bereits nach 1-3 Stunden und einem Abfall unter die Nachweisgrenze nach 5 Stunden messen [36]. Durch die Freisetzung dieser proinflammatorischen Zytokine kann es zu den oben beschriebenen Symptomen, mit im Folgenden SIRS und MOV kommen. So ist es nicht verwunderlich, dass höhere Endotoxinkonzentrationen mit einem höheren Risikos für einen septischen Schock einhergehen [39].

EINLEITUNG UND HINTERGRUND

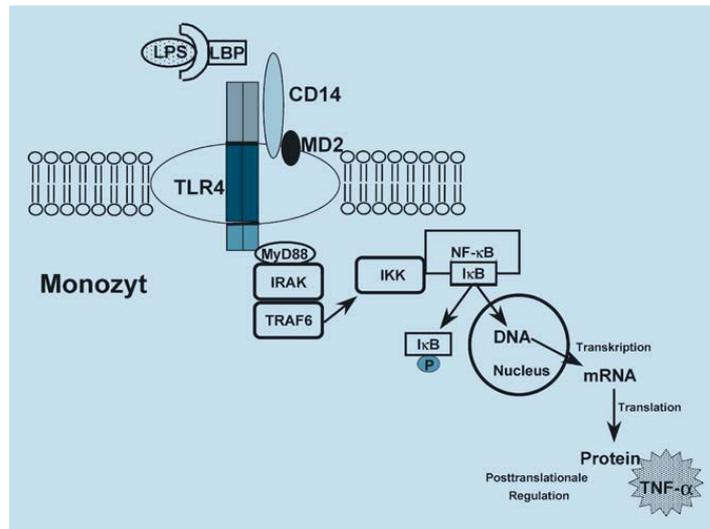


Abbildung 3 Signaltransduktionsweg im Monozyten; aus [35]

Wesentlicher Bestandteil einer Sepsistherapie ist die frühzeitige und kalkulierte Gabe von Antibiotika. Antimikrobielle Therapien können jedoch zu Beginn durch den massiven Zellzerfall auch zu einer hohen Endotoxinfreisetzung führen und so eine klinische Verschlechterung des Patientenzustandes bewirken. Dies wurde erstmals von Jarisch und Herxheimer bei der Therapie der Syphilis mit Arsen beschrieben. Die sogenannte Jarisch-Herxheimer-Reaktion wurde später auch bei verschiedenen anderen antibiotischen Substanzen beobachtet. Neben Penicillin [40], Doxycyclin [41] sollen insbesondere auch β -Lactam Antibiotika, die an das Penicillin-bindende Protein-3 binden, wie Piperacillin, Cefuroxim und Ceftazidim [42, 43] zu einer hohen Endotoxinfreisetzung führen.

Im Wissen um die zentrale Rolle des Endotoxins bei dem Verlauf einer gram-negativen Sepsis wurde seit Jahrzehnten an verschiedene Therapieansätze geforscht. In den 1980er und 90er Jahren versuchte man humane Immunglobulin (Ig) G Antikörper [44], murine IgM Antikörper [45] und humane IgM Antikörper [46] gegen das Core-Oligosaccharid und Lipid-A des LPS zu entwickeln, wobei letztlich in weiteren Studien für keine der Therapien ein Überlebensvorteil gezeigt werden konnte [47-52]. Ein weiterer Ansatz war die Bindung und damit Neutralisierung von freiem und membranständigem Endotoxin mittels Bactericidal Permeability Increasing Protein (BPI) [53]. Jedoch konnte auch hier in der Kontrollstudie keine Letalitätssenkung bestätigt werden [54]. Eine Verbesserung des Zustandes von Peritonitispatienten, jedoch keinen Überlebensvorteil, zeigte eine Studie zur extrakorporalen Endotoxinabsorption [55]. In einer weiteren Studie konnte ein Überlebensvorteil durch eine frühzeitige extrakorporale Endotoxinabsorption mittels Polymyxin B bei Peritonitispatienten gezeigt werden, wobei es sich um eine kleine Patientenzahl ($n=64$) handelte [56]. Weitere Ansätze liegen in einer Hemmung der Signaltransduktion und damit Verminderung der Endotoxinwirkung über Anti-CD14-Antikörper [57] oder kompetitiver Bindung eines

EINLEITUNG UND HINTERGRUND

synthetischen Lipid-A-Analogons am TLR4 Rezeptor [58]. Ob sich daraus in der Zukunft Therapiemöglichkeiten ergeben müssen weitere Studien zeigen.

1.6. PARAMETER DER KLINISCHEN ROUTINE

Die folgenden Parameter sind schon seit längerem zur Abschätzung einer Infektion (CRP und Leukozytenzahl) bzw. Gewebehypoxie/Minderperfusion (Laktat) Bestandteil der klinischen Routine. Deshalb wurden sie auch bei den in die Studie eingeschlossenen Patienten routinemäßig von den jeweiligen Kliniken bestimmt und zum Vergleich zu neueren experimentellen Parameter mit in diese Studie aufgenommen.

1.6.1. C-REAKTIVES PROTEIN

Das C-reaktive Protein (CRP) ist ein Akut-Phase-Protein, das in der Leber gebildet wird. Seinen Namen erhielt es durch die Bindung an das C-Polysaccharid der Pneumokokken im Plasma von Patienten mit einer akuten Pneumokokkenpneumonie [59]. Es kann sowohl bei lokalen als auch bei systemischen Infektionen bakterieller und abakterieller Genese erhöht sein und zeigt eine relativ langsame Kinetik, da die Plasmakonzentration erst ca. 12-24 Stunden nach Infektionsbeginn ansteigt und auch noch Tage nach der Beseitigung einer Infektion erhöht sein kann [15, 60]. Es bindet an Phosphocholin, das auf der Oberfläche absterbender Zellen und Bakterien lokalisiert ist und aktiviert so sowohl das Komplementsystem, als auch phagozytierende Zellen; darüber hinaus induziert es in Monozyten die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine und Gewebsthromboplastin [61]. IL-6, als proinflammatorisches Zytokin, ist der stärkste Stimulus für die Expression des CRPs in der Leber. Die CRP-Werte können sowohl bei akuten Entzündungsprozessen, als auch bei chronisch entzündlichen Erkrankungen und Tumoren erhöht sein.

1.6.2. LEUKOZYTEN

Die Leukozyten, auch „weiße Blutkörperchen“ genannt, sind Bestandteil des Immunsystems; sie werden in Granulozyten, Monozyten, und Lymphozyten unterteilt und erfüllen so unterschiedliche Aufgaben. Sie werden aus pluripotenten Stammzellen im Knochenmark gebildet und befinden sich im ausgereiften Zustand zu >50% im extravasalen, interstitiellen Raum und zu ca. 30% im Knochenmark [62]. Die im Blut gemessene Anzahl liegt bei Gesunden zwischen 4000/ μ l-10000/ μ l und variiert abhängig von Tageszeit und Aktivität des

EINLEITUNG UND HINTERGRUND

Organismus [62]. Erhöhte Werte werden als Leukozytose, erniedrigte als Leukopenie bezeichnet. Erhöhte Leukozytenwerte können unterschiedliche Ursachen haben: nach Aktivierung von bakteriellen Toxinen, Zytokinen und Kortikosteroiden werden an Endothelien adhärenente Leukozyten in die Blutbahn freigegeben, es können bei malignen Erkrankungen oder durch Infektion ausgelöst, vermehrt Leukozyten gebildet werden, sowie durch eine Verlängerung der Lebenszeit, wie z.B. bei malignen Lymphomen/CLL der Abbau verzögert werden [63]. Neben den infektiösen oder malignen Ursachen lassen sich erhöhte Leukozytenwerte auch bei Stress, Herzinfarkt, Apoplex, Kollagenosen, diabetischen Entgleisungen oder in der Schwangerschaft messen [63]. Einer Leukopenie liegt eine verminderte Produktion und/oder ein vermehrter Abbau von Leukozyten zugrunde. Ursächlich für eine verminderte Produktion kann ein Vitamin-B12- oder Folsäure-Mangel, eine hypo-/aplastischen Störung (Aplastische Anämie, Myelodysplasie), eine Speicherkrankheit (z.B. M. Gaucher), eine toxische (z.B. Chemotherapie) oder strahleninduzierten Schädigung des Knochenmarkes, eine allergische (z.B. Arzneimittelunverträglichkeit) oder entzündliche Störung, eine Kollagenose oder eine maligne Erkrankung (z.B. Verdrängung des gesunden Knochenmarks durch Tumor- oder Leukämiezellen) sein [63]. Ein vermehrter Abbau der Leukozyten findet sich bei Autoantikörpern z.B. im Rahmen einer Kollagenose. Eine mäßige Leukopenie ist bei Splenomegalie häufig. Die häufigste Ursache für eine Leukopenie durch „Verbrauch“ ist aber die schwere entzündliche Reaktion wie z.B. bei einer Sepsis [63].

1.6.3. LAKTAT

Bei der Glykolyse wird unter Energiegewinn Glucose zu Pyruvat umgewandelt [64]. In Zellen mit Mitochondrien und ausreichender Sauerstoffzufuhr wird das Pyruvat im Citratzyklus und der Atmungskette vollständig zu CO_2 und H_2O oxidiert. In Erythrozyten, die keine Mitochondrien besitzen und bei anaerober Stoffwechsellage der Körperzellen, wird das Pyruvat zu Laktat reduziert. Laktat kann in der Leber und in geringerem Maße auch in den Nieren wieder zu Pyruvat und Glucose synthetisiert werden (Gluconeogenese) [65]. Wenn über den anaeroben Stoffwechselweg mehr Laktat gebildet wird, als über die Gluconeogenese abgebaut werden kann, kumuliert es im Blut. Erhöhte Laktatkonzentrationen können als Marker einer kritischen Hypoperfusion und Gewebhypoxie angesehen werden. So steigt es zum Beispiel im Rahmen eines Mesenterialinfarktes oder bei Schockzuständen stark an [64]. Bei der 2016 publizierten SEPSIS-3 Definition werden über 2 mmol/l erhöhte Laktatspiegel (neben anderen Kriterien) zur Diagnose eines septischen Schocks, einhergehend mit einer erhöhten Mortalität, beschrieben [29]. LPS kann auch, wie von Michaeli et al. gezeigt, bei Probanden die

gesteigerte Laktat Produktion herbeiführen [66]. Außerdem ist es bei schweren Leberschädigungen, welche mit reduzierter Leberfunktion und damit herabgesetzter Abbaukapazität einhergehen, erhöht [64].

1.7. KLINISCH-EXPERIMENTELLE PARAMETER

1.7.1. LIPOPOLYSACCHARID-BINDENDEN PROTEIN

Das erstmalig 1986 beschriebene Lipopolysaccharid-bindende Protein (LBP) ist ein Glykoprotein, das durch seine Zugehörigkeit zu den Akut-Phase-Proteinen eine zentrale Rolle in der Abwehr von Infektionen spielt [67]. Das in den Hepatozyten synthetisierte Protein wird kontinuierlich freigesetzt und liegt auch bei Gesunden im Blut in einer Konzentration von 2-17 µg/ml vor [39, 68]. LBP bindet an die Lipid-A Einheit von LPS und hat im Folgenden eine katalytische Funktion [68-70]. Es fördert bereits in niedrigen Konzentrationen den Transfer von LPS an CD14 Rezeptoren auf Monozyten/Makrophagen bzw. löslichen CD14 Rezeptoren und löst so über TLR4/MD-2 Rezeptoren die weiteren Signaltransduktionswege in den Zellen aus in dessen Folge es zu einer Sekretion von TNF-α und weiteren proinflammatorischen Zytokinen kommt (s. 1.5) (Abbildung 3, Abbildung 4).

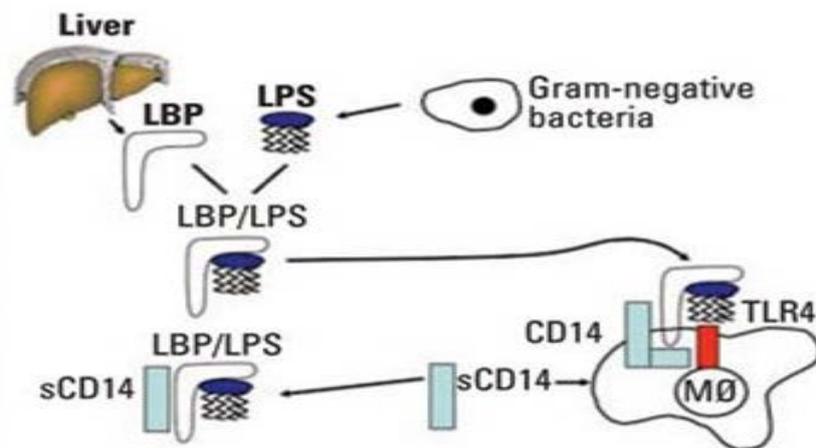


Abbildung 4 Funktion des LBP; aus [71]

In hohen Serumkonzentrationen, wie sie während der Akutphase der Sepsis vorkommen können, hat LBP einen protektiven Effekt. Es wird mit löslichem CD14 Rezeptoren in HDL (high density lipoprotein) gebunden und somit inaktiviert [70]. Dadurch wird die LPS Bindung an den Monozyten vermindert und so eine überschießende Sekretion proinflammatorischer Zytokine verhindert. Daher wird LBP neben der verstärkenden Wirkung bei der Erkennung des LPS auch eine detoxifizierende Wirkung zugeschrieben [68].

EINLEITUNG UND HINTERGRUND

Erhöhte LBP Spiegel finden sich bei septischen Patienten unabhängig von dem auslösenden Erreger; es ist sowohl bei gram-negativen, als auch gram-positiven Bakteriämien und Pilzinfektionen erhöht [39, 72, 73].

1.7.2. HMGB-1

HMGB-1 (high-mobility-group-box 1) ist ein DNA-bindendes Protein und folglich im Zellkern lokalisiert. Es bindet an Chromatin und reguliert dadurch DNA-abhängige Prozesse wie Replikation, Transkription und DNA-Reparatur [74]. Darüber hinaus erfüllt es auch immunologische Funktionen. Es wird aktiv nach Zytokinstimulation von Monozyten und Makrophagen sezerniert bzw. passiv von nekrotischen Zellen freigesetzt [74]. Somit wird es in die Gruppe der DAMPs eingeordnet. Die aktive Freisetzung kann durch verschiedene Stimuli, wie das Interferon (IFN)- γ [75], IL-1 β und LPS [76] getriggert werden. Seine proinflammatorische Wirkung entfaltet es durch die Bindung an TLR-2, TLR-4 und RAGE (receptor for advanced glycation endproducts) und der daraus folgenden Aktivierung von neutrophilen Granulozyten, Monozyten und Makrophagen [74]. Diese setzen Zytokine, Adhäsionsmoleküle und iNOS (induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase) frei. HMGB-1 spielt eine wichtige Rolle bei der Induktion einer Sepsis; so sind die Serumkonzentrationen bei Endotoxinämie, Sepsis und Arthritis signifikant erhöht, zeigen jedoch eine verspätete Kinetik im Vergleich zu TNF und IL-1 β [76]. Neben anderen Proteinen kann HMGB-1 auch LPS binden und dieses den CD14 Rezeptoren präsentieren, sowie insgesamt die Sensitivität von TLR4/MD-2 gegenüber LPS erhöhen. Ein Überschießen der vom HMGB-1 getriggerten Immunantwort als Reaktion auf das LPS, konnte im Mausmodell durch HMGB-1- Antikörper verhindert werden und so die letale Wirkung des LPS inhibieren [77]. Als Folge von Polytrauma [78], Myokardinfarkt [79], Schlaganfall [80], ARDS (acute respiratory distress syndrome) [81] und Lebertransplantation [82] können die HMGB-1 Werte auch erhöht sein. Im Gegensatz zur Sepsis sind die Serumwerte bei schwerem Unfalltrauma bereits nach einer Stunde signifikant erhöht gegenüber den Kontrollen und erreichen ihr Maximum nach 2 bis 6 Stunden [78]. HMGB-1 kann, wenn es von apoptotischen Zellen freigesetzt wird, auch eine antiinflammatorische Wirkung haben. Es fördert dann die Immuntoleranz, indem das von den Mitochondrien, nach der Aktivierung durch Caspase, produzierten ROS (reactive oxygen species) HMGB-1 oxydiert und so seine proinflammatorische Wirkung hemmt [83].

1.7.3. *PMN-ELASTASE*

Granulozyten phagozytieren, nach Zytokin-, Komplement- oder LPS-Stimulation, Bakterien, andere Erreger und Gewebebestandteile. Um diese verdauen zu können nutzen sie Proteasen, wie die Poly-Morpho-Nuclear (PMN)-Elastase, die in den azurophilen Granula der polymorphkernigen Granulozyten lokalisiert ist. Nach der Aktivierung der Granulozyten oder beim ihrem Zerfall, wird ein Teil der Enzyme in den Extrazellularraum freigesetzt. Dort wird die Elastase in Ihrer Aktivität von Inhibitoren, wie dem α_1 -Antitrypsin, reguliert [84]. Eine überschießende Freisetzung kann lokale Gewebeschäden verursachen, die durch gleichzeitig produzierte Oxidantien, wie den Sauerstoffradikalen, noch verstärkt werden können. Extrazellulär übt die Elastase vielseitige Funktionen aus, wie die Induktion der Zytokin-, Chemokin- und Wachstumsfaktorfreisetzung [85, 86], Aktivierung von Proteasen [87] und Thrombozyten [88], sowie Abbau von Bestandteilen der Extrazellulären Matrix [89] und Plasmaproteinen [90]. Darüber hinaus kann sie spezifische Oberflächenrezeptoren, die die zytokinabhängige Immunantwort steuern, aktivieren oder abbauen [85]. Belaouaj et al. zeigten, dass die Elastase Oberflächenproteine gram-positiver Bakterien zerstören kann [91]. Erhöhte Plasmawerte finden sich bei Sepsis, akuter Pankreatitis, nach Polytrauma und bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Gelenk- bzw. Darmerkrankungen [92], sowie nach LPS Stimulation [93, 94].

1.7.4. *CATHEPSIN X*

Die Gruppe der Cathepsine beschreibt elf lysosomale Cystein-Proteasen, die in verschiedenen Zelllinien vorkommen und dort als Endo- oder Exopeptidasen Proteine spalten. Cathepsin X, auch als Cathepsin Z oder P bezeichnet, unterscheidet sich in Form, Genmuster und Aktivitätseigenschaften stark von anderen Cystein-Proteasen [95]. Es wird vorrangig in Monozyten und Makrophagen exprimiert und hat Carboxypeptidase Eigenschaften [96]. Cathepsine liegen in einer Proform und der aktivierten Form vor. Cathepsin X wird durch Cathepsin L aktiviert. Neben seinem intrazellulären Vorkommen kann es auch aktiv sezerniert werden und nimmt dann an Zellmigrations- und Invasionsprozessen teil; durch seine Interaktion mit β_2 -Integrinen reguliert es Adhäsion, Phagozytose und T-Zell Aktivierung [95]. Eine weitere immunologische Funktion erfüllt es im Kallikrein-Kinin System, indem es Bradykinin und Kallidin zu spezifischen Liganden für den Bradykinin B₁ Rezeptor, der eine wichtige Rolle für die Akkumulation von Neutrophilen in entzündlichem Gewebe spielt, umwandelt [97]. Außerdem ist es in der Lage BPP (bradykinin potentiating peptide), ein Protein das die Wirkung von Kininen in entzündlichem Gewebe steigert, zu produzieren [98]. In eine Studie von Nögler et al. wurden bei gesunden

EINLEITUNG UND HINTERGRUND

Probanden Plasmaspiegel zwischen 31 bis 165 ng/ml (Median 70 ng/ml) gemessen [96]. Erhöhte Cathepsin X Werte wurden als Ausdruck einer Monozyten- und Makrophagenaktivierung bei entzündlichen Prozessen im Körper, nach Polytrauma [96], Prostata- [99] und Magenkarzinom [100], sowie bei an Alzheimerdemenz Erkrankten [101] gefunden.

1.7.5. NEOPTERIN

Neopterin ist ein Abbauprodukt des Guanosintriphosphat (GTP) und gehört zur Gruppe der Pteridine [102]. Es ist ein relativ stabiles Protein, welches in Körperflüssigkeiten, wie Urin, Serum und Liquor nachgewiesen werden kann [102, 103]. Da es renal eliminiert wird, wird meist der Neopterin/Kreatinin Quotient bestimmt um von der Nierenfunktion unabhängige Werte angeben zu können. Bereits 1983 zeigten Niederwieser et al., dass nach T-Zellstimulation durch virale Infektion und Autoimmunreaktionen erhöhte Neopterinwerte gemessen werden können [104]. Aktivierte T-Zellen setzen IFN- γ frei, das in Monozyten und Makrophagen eine Ausschüttung von Neopterin induziert [102, 103]. Es konnten erhöhte Werte bei Infektionen mit Viren, Parasiten und intrazellulären Bakterien bestimmt werden [103]; entsprechend konnte in vitro nach LPS Stimulation von Yao et al. und Troppmair et al., eine gesteigerte Neopterinproduktion gemessen werden [105, 106]. Desweiteren ließen sich erhöhte Werte bei Polytraumapatienten messen, die im Verlauf ein MOV entwickelten [107]. Der Neopterinwert kann zudem zur Abschätzung einer Progression einer HIV-Infektion, Transplantatabstoßung oder Fortschreiten einer malignen Erkrankung dienen [103], sowie als prognostischer Marker für kardiovaskulärer Erkrankungen eingesetzt werden [108].

1.7.6. HLA-DR

Humanes Leukozyten-Antigen DR (HLA-DR) kann in die Gruppe der MHC (major histocompatibility complex)-Moleküle Klasse II eingeordnet werden und ist an der Oberfläche aller antigenpräsentierenden Zellen, wie Monozyten, Makrophagen, B-Lymphozyten und dendritischen Zellen lokalisiert [16]. Seine Aufgabe liegt in der Präsentation von phagozytierten Proteinen, die über T-Zellrezeptoren auf den T-Helferzellen erkannt werden. Diese setzen daraufhin Zytokine und andere proinflammatorischen Substanzen frei. Die Expression der MHC Moleküle auf der Oberfläche kann durch Zytokine gesteuert werden. So kann zum Beispiel IFN- γ die Expression von MHC-I und MHC-II Molekülen verstärken [109]. Für IL-10 gibt es gegensätzliche Beobachtungen; in Anwesenheit von IL-10, ein antiinflammatorisches Zytokin, werden die HLA-DR Moleküle internalisiert [110]. Durch seine

EINLEITUNG UND HINTERGRUND

verschiedenen Allele ist das HLA-DR Molekül sehr vielseitig und das am meisten exprimierte MHC-II Molekül auf Monozyten [111]. Somit stellt es einen wichtigen Teil der Immunantwort dar. Sind zu wenige HLA-DR Moleküle auf den antigenpräsentierenden Zellen vorhanden kann keine adäquate Aktivierung des spezifischen Immunsystems erfolgen. So konnte für polytraumatisierte Patienten gezeigt werden, dass ein adäquater Anstieg der HLA-DR Expression nach dem initialen Abfall, in Folge des Traumas, mit dem weiteren Krankheitsverlauf und dem Überleben korreliert [112]. Bei einer Studie mit Schwerbrandverletzten zeigte sich eine niedrigere Expression als in der Kontrollgruppe, welche weiter abfiel, wenn die Patienten eine Sepsis entwickelten [113]. Eine, über den 5. Tag hinaus gehende, Abnahme der MHC-II Expression auf den Monozyten, scheint mit einer anhaltenden Immunsuppression und der Entwicklung einer schweren Sepsis einherzugehen [114]. Wobei durch eine verminderte HLA-DR Expression auch eine überschießende Immunreaktion gehemmt werden soll. So kann die durch LPS induzierte Reduktion der HLA-DR Expression auf Monozyten im Rahmen einer Endotoxintoleranz gewertet werden [115].

1.8. FRAGESTELLUNG

Die vorliegende Studie sollte folgende Fragen beantworten:

1. Wie stellt sich der klinische Verlauf dar und wie verhalten sich verschiedene Parameter der inflammatorischen Antwort nach schwerem Verbrennungstrauma (mit einem Anteil von mindestens 20% zweitgradig verbrannter Körperoberfläche) bzw. nach schwerer Mehrfachverletzung (mit einer Verletzungsschwere nach ISS von 16 oder mehr Punkten (Polytrauma)) vom Unfalltag (Tag 0) bis Tag 10 nach dem Unfall?

Dabei wurden folgende klinisch-experimentelle Parameter bestimmt:

- Lipopolysaccharid-bindendes Protein (LBP)
- High Mobility Group Box 1 (HMGB-1)
- Cathepsin X
- PMN-Elastase
- Neopterin/Kreatinin Quotient
- Humanes Leukozyten-Antigen DR (HLA-DR)

sowie die „klassischen“ Entzündungs-/Schockparameter des klinischen Routinelabors:

Leukozyten, C-reaktives Protein (CRP) und Plasma-Laktat

EINLEITUNG UND HINTERGRUND

2. Welche Rolle spielt Endotoxin im Verlauf nach schwere Verbrennungsverletzung oder Polytrauma?

Dafür wurden folgende Aspekte untersucht:

- Als Surrogat einer absoluten Endotoxin-Konzentration wurde mit dem Endotoxin Activity Assay (EAA) die Endotoxinaktivität semiquantitativ in einem Chemolumineszenz-Verfahren gemessen.
- Die Endotoxinaktivität wurde in beiden Patientenkollektiven abhängig vom Unfallmechanismus (Verbrennung oder Polytrauma) über den Beobachtungszeitraum bestimmt um eine mögliche Rolle einer Endotoxinämie bzw. deren Auswirkung auf die Entzündungsreaktion zu erkennen.
- Außerdem wurde die Endotoxinaktivität mit den anderen untersuchten Parametern unabhängig vom Unfallmechanismus korreliert um deren mögliche Interaktionen aufzuzeigen.

2. PATIENTEN, MATERIAL UND METHODEN

2.1. PATIENTEN

Das Patientenkollektiv wurde aus der Abteilung für Unfallchirurgie des Klinikums der Universität München Campus Großhadern (Polytraumapatienten) sowie der Abteilung für plastische und wiederherstellende Chirurgie (Zentrum für Schwerbrandverletzte) Städtisches Klinikum München-Bogenhausen rekrutiert (Schwerbrandverletzte).

Die Studie wurde von der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der LMU genehmigt (Studennummer 284-06).

2.1.1. EIN- UND AUSSCHLUSSKRITERIEN

In die Studien wurden Patienten mit zwei verschiedenen Verletzungsarten eingeschlossen: mechanisches Gewebetrauma und schwere Verbrennung. Um innerhalb der jeweiligen Patientengruppe eine möglichst homogene Verletzungsschwere und die damit verbundene Immunreaktion zu erhalten, wurden Patienten mit mechanischem Gewebetrauma eingeschlossen, wenn sie ein schwere Mehrfachverletzung mit einem Injury Severity Score (ISS) ≥ 16 Punkten (Polytrauma) bzw. Verbrennungspatienten mit einem Anteil verbrannter Körperoberfläche (VKOF) ab 20% und mindestens 2. gradiger Verbrennungstiefe (Schwerbrandverletzte) erlitten hatten.

Für alle Patienten galten weiter die folgenden Einschlusskriterien: Mindestalter von 18 Jahren, unterschriebene Einverständniserklärung und die Möglichkeit des Studienbeginns spätestens am ersten Tag nach Trauma. Da die meisten Patienten bei Aufnahme in die Studie nicht aufklärungs- und einwilligungsfähig waren, galt laut Ethikantrag der mutmaßliche Wille der Patienten. Sie wurden, sobald sie aufklärungsfähig waren, von einem approbierten Arzt über die Inhalte, das Prozedere und die Risiken der Studie aufgeklärt. Bei der Ablehnung der Teilnahme wurde das bereits gewonnene Material und in den Studienunterlagen bereits erhobene Ergebnisse vernichtet. Bei jenen Patienten, die im Laufe ihres Aufenthaltes verstarben wurden die Totensorgeberechtigten über die Studie aufgeklärt.

Ausschlusskriterien waren eine zurückgenommene Einverständniserklärung, Jugendliche bis zur Vollendung des 18. Lebensjahres, mangelnde Deutschkenntnisse, Schwangerschaft und Unterbringung auf behördliche Anordnung in einer Anstalt (z.B. Strafgefangene).

2.1.2. ANGEWANDTE SCORINGSYSTEME

2.1.2.1. SAPS II

Der SAPS II (Simplified Akute Physiological Score) Score (Tabelle 3) dient seit seiner Entwicklung von Le Gall et al. 1993 zur Klassifizierung der Verletzungsschwere anhand von 17 Parametern, darunter 12 physiologische und laborchemische Parametern, Alter, Grund der Aufnahme und bereits vorliegende Grunderkrankungen (Immundefizit, metastasiertes Tumorleiden, maligne hämatologische Erkrankung) [116]. Es werden die jeweils schlechtesten Werte in einem Zeitraum von 24 Stunden erhoben. Er wird regelmäßig auf Intensivstationen, neben dem TISS Score (Therapeutic Intervention Scoring System) zur Verlaufsbeurteilung der Krankheitsschwere erhoben. Einen weiteren Einsatz findet er in klinischen Studien zur Abschätzung der Erkrankungsschwere bei Einschluss der Patienten.

Tabelle 3 SAPS II Score; entspricht dem Erhebungsbogen aus dem TraumaRegister der DGU; nach [116]

SAPS II

maßgeblich sind die schlechtesten Werte (höchste Punktzahl) in einem 24-Stunden-Zeitraum seit dem zur Intensiv-Aufnahme führenden Ereignis (Unfall, OP, Komplikation)

	Punkte bei abnormal niedrigen Werten				„normal“	Punkte bei abnormal hohen Werten				
Alter (Jahre)					<40	40-59 7	60-69 12	70-74 15	75-79 16	≥80 18
Herzfrequenz (pro Min.)			<40 11	40-69 2	70-119	120-159 4	≥160 7			
Blutdruck (syst., mmHg)			<70 13	70-99 5	100-199	≥200 2				
Temperatur (°C)					<39.0	≥39.0 3				
nur bei Beatmung o. Pulmonalis-Katheder PaO₂ (mmHg) / FiO₂	<100 11	100-199 9	≥200 6		-					
Urinausscheidung (L/Tag)			<0.5 11	0.5-0.99 4	≥1,0					
Harnstoff (mg/dl) oder Harnstoff-Stickstoff (mg/dl)					<60 28	60-179 6	≥180 10			
Leukozyten (10 ³ /mm ³)			<1.0 12		1.0-19,9	≥20 3				
Kalium (mmol/L)			<3 3		3.0-4.9	≥5.0 3				
Natrium (mmol/L)			<125 5		125-144	≥145 1				
Serum Bikarbonat (mEq/L)			<15 6	15-19 3	≥20					
Bilirubin (mg/dl)					<4.0	4.0-5.9 4	≥6.0 9			
Glasgow Coma Scale (vor Sedierung)	<6 26	6-8 13	9-10 7	11-13 5	14-15					
Vorerkrankungen					-	metastas. Karzinom 9	maligne hämatolog. Erkr. 10			AIDS 17
Zuweisung auf ICU					elektiv chirurgisch	medizinisch (ohne OP) 6	ungeplant chirurgisch 8			

2.1.2.2. RISC - Überlebensprognose für Polytraumapatienten

Der Revised Injury Severity Classification Score (RISC) (Tabelle 4), der aus den Daten des TraumaRegisters der DGU entwickelt wurde, gibt eine Überlebenswahrscheinlichkeit in

PATIENTEN, MATERIAL UND METHODEN

Prozent an [117]. Er ist eine Weiterentwicklung des Revised Trauma Score und ISS mit besserer Vorhersagekraft [118]. Die Daten zur RISC-Prognose in dieser Studie wurden direkt aus den TraumaRegister-Daten in die Studiendatenbank übernommen. Die Werte wurden für die jeweiligen Fälle dort auf der Basis der vorhandenen Daten automatisch berechnet.

Tabelle 4 RISC-Score; aus [117]

RISC Revised Injury Severity Classification

Parameter	Wert	Koeffizient
Alter	55 - 64	- 1,0
	65 - 74	- 2,0
	ab 75	- 2,3
New ISS	Score	- 0,03
AIS Kopf	4	- 0,5
	5/6	- 1,8
AIS Extremitäten	5	- 1,0
GCS	3-5	- 0,9
Gerinnung (PTT)	40-49	- 0,8
	50-79	- 1,0
	ab 80	- 1,2
Base Excess	-9 bis -19,9	- 0,8
	≤ -20	- 2,7
Herzstillstand / RR=0	ja	- 2,5
Indir. Blutungszeichen*	1	- 0,4
	2	- 0,8
	3	- 1,6
Konstante	...	5,0

* RR_{opt} < 90 mmHg / Hb < 9 mg/dl / Anzahl EK > 9

Seit 2013 gibt es einen aktualisierten RISC II Score, der der zuletzt zu beobachteten verminderten Sterblichkeit (Werte im TraumaRegister lagen deutlich unter der berechneten Prognose) Rechnung trägt [119]. Der RISC II Score konnte jedoch für diese Studie nicht berücksichtigt werden, da er erst nach Schluss der Datenbank publiziert wurde.

2.1.2.3. ABSI - Überlebensprognose für Schwerbrandverletzte

Mit Hilfe des Abbreviated Burn Severity Index (ABSI), welcher 1982 von Tobiasen et al. veröffentlicht wurde, lässt sich die Überlebenswahrscheinlichkeit nach schweren Brandverletzungen anhand von fünf Kriterien, welche in die Berechnung einfließen, angeben (Tabelle 5) [120]. Zu ihnen zählen Alter und Geschlecht des Patienten, Vorhandensein eines Inhalationstraumas (IHT) bzw. drittgradiger Verbrennungen sowie die verbrannte Körperoberfläche in Prozent [120]. In dieser Studie wurden die Daten für den ABSI bei Einschluss in die Studie erhoben und in einer entsprechenden Tabelle dokumentiert. Als IHT wurde der bronchoskopische Nachweis von Ruß in den tiefen Atemwegen bei Aufnahme definiert.

PATIENTEN, MATERIAL UND METHODEN

Tabelle 5 ABSI Score; aus [120]

<u>Variable</u>	<u>Patient Characteristic</u>	<u>Score</u>
Sex	Female	1
	Male	0
Age in years	0-20	1
	21-40	2
	41-60	3
	61-80	4
	81-100	5
Inhalation injury		1
Full thickness burn		1
Total body surface area burned (%)	1-10	1
	11-20	2
	21-30	3
	31-40	4
	41-50	5
	51-60	6
	61-70	7
	71-80	8
	81-90	9
	91-100	10
<u>Total Burn Score</u>	<u>Threat to Life</u>	<u>Probability of Survival (%)</u>
2-3	Very low	≥ 99
4-5	Moderate	98
6-7	Moderately severe	80-90
8-9	Serious	50-70
10-11	Severe	20-40
12-13	Maximum	≤ 10

2.1.2.4. SOFA

Der Sepsis-related Organ Failure Assessment Score (SOFA) dient zur Abschätzung der Organfunktion bzw. Organversagen [121]. Die Funktion des Herz-/Kreislauf-, ZNS- (Zentrales Nervensystem), respiratorischen, hepatischen, renalen und Blutgerinnungssystem wird betrachtet. Für jedes System werden für die einzelnen physiologischen Parameter null bis vier Punkte vergeben, die dann addiert die Gesamtpunktzahl des Scores ergeben (Tabelle 6). Je höher die Punktzahl, desto schlechter die Organfunktion. Bei Werten von eins oder zwei pro Organ spricht man von einer Dysfunktion, bei größer gleich drei Punkten von einem Organversagen. Sind bei mindestens zwei Organen an mindestens zwei aufeinanderfolgenden Tagen die Kriterien für ein Organversagen erfüllt, handelt es sich definitionsgemäß um ein MOV. MOV und hohe SOFA-Scores für ein Organ gehen mit einer erhöhten Letalität einher [122].

Analog zum TraumaRegister DGU galt in dieser Studie ein SOFA-Score von 3 oder mehr Punkten pro Organsystem als ein Einzelorganversagen und lag ein MOV vor, wenn zwei oder mehr Organsysteme an mindestens zwei aufeinanderfolgenden Tagen von einem Organversagen betroffen waren.

Tabelle 6 SOFA-Score; aus [122]

SOFA score	1	2	3	4
<i>Respiration</i> PaO ₂ /FiO ₂ mmHg	< 400	< 300	< 200 with respiratory support	< 100 with respiratory support
<i>Coagulation</i> Platelets x 10 ³ /mm ³	< 150	< 100	< 50	< 20
<i>Liver</i> Bilirubin, mg/dL (µmol/L)	1.2–1.9 (20–32)	2.0–5.9 (33–101)	6.0–11.9 (102–204)	> 12.0 (> 204)
<i>Cardiovascular</i> Hypotension ^a	MAP < 70 mmHg	Dopamine ≤ 5 or Dobutamine (any dose)	Dopamine < 5 or epinephrine ≤ 0.1 or norepinephrine ≤ 0.1	Dopamine > 1.5 or epinephrine > 0.1 or norepinephrine > 0.1
<i>Central Nervous System</i> Glasgow coma score	13–14	10–12	6–9	< 6
<i>Renal</i> Creatinine, mg/dL (µmol/L) or urine output	1.2–1.9 (110–170)	2.0–3.4 (171–299)	3.5–4.9 (300–440) or < 500 mL/day	> 5.0 (> 440) or < 200 mL/day

^a adrenergic agents administered for at least one hour (doses given are in µg/kg · min)

2.1.2.5. Kriterien für das Vorliegen eines Systemischen Inflammatorischen Response Syndroms (SIRS) - sog. Bone-Kriterien

Das Vorliegen einer systemischen Entzündungsantwort – einem sog. Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) – wurde in dieser Studie anhand der sog. SIRS- oder Bone-Kriterien festgestellt. Diese Kriterien wurden erstmals 1992 in einem Internationalen Konsensus definiert nach dem Erstautor der begleitenden Publikation R.C. Bone benannt [21]: Tachykardie, Tachypnoe, Temperaturschwankungen und abnorme Leukozytenzahlen im Blutbild (Tabelle 2).

Ein SIRS wurde angenommen, wenn zwei oder mehr dieser Kriterien erfüllt waren. Wurde zusätzlich zu einem SIRS eine Infektion durch Keimnachweis oder aufgrund des klinischen Verdachts auf eine Infektion diagnostiziert, so wurde die Diagnose einer Sepsis gestellt.

2.1.3. KLINISCHE DATENGEWINNUNG, DOKUMENTATION UND BEURTEILUNG DES KLINISCHEN VERLAUFS

Die klinischen und laborchemischen/mikrobiologischen Parameter der Patienten wurden bei jeder Blutentnahme sowie nach Entlassung des Patienten mit Hilfe eines für diese Studie entwickelten Case Report Form (CRF) erhoben. Dieser umfasst neben der Dokumentation der Probenentnahme und Verarbeitung, auch die Bone-Kriterien zur Beurteilung eines SIRS, die Ergebnisse mikrobieller Proben zur Diagnose einer Sepsis, die zur Berechnung des SOFA-Scores benötigten Parameter zur Dokumentation eines Organversagens, den SAPS II Score, den RISC bzw. ABSI Score zur Abschätzung der Überlebenschancen und letztlich die Dauer des Intensiv Aufenthaltes und der maschinellen Beatmung, sowie das

PATIENTEN, MATERIAL UND METHODEN

Outcome der Patienten, welche aus der Patientenakte abgelesen wurden. Die Routineparameter der klinischen Chemie, wie das Blutbild, CRP, Kreatinin, Leberenzyme, Bilirubin und Gerinnungswerte wurden aus der Dokumentation der jeweiligen Kliniken übernommen und ebenso in dem CRF dokumentiert. Bei den polytraumatisierten Patienten wurde zusätzlich der Dokumentationsbogen des TraumaRegisters der DGU verwendet.

2.1.4. PROBENGWINNUNG

Den Patienten wurde am Unfalltag (Tag 0), innerhalb der ersten acht Stunden nach dem Trauma, sowie an den konsekutiven Tagen 1, 3, 5, 7 und 10 morgens zwischen 7:00 Uhr und 9:00 Uhr jeweils 20 ml EDTA (Ethyldiamintetraacetat)-Blut abgenommen (Abbildung 5). Die Abnahme erfolgte unter sterilen Bedingungen aus zentralvenösen oder intraarteriellen Zugängen, oder, falls keine entsprechenden Zugänge mehr vorlagen, durch periphere venöse Punktion.

Des Weiteren wurden Urinproben genommen, sofern bei den Patienten ein Blasendauerkatheter vorhanden war. In diesem Fall wurden an den Messzeitpunkten je 10 ml Urin steril aus dem Katheter abgenommen. Die Sammlung von Urinproben wurde allerdings erst einige Monate nach Studienbeginn begonnen, so dass für einige der eingeschlossenen Patienten keine Daten zu den aus dem Urin bestimmten Parametern vorliegen.

Die Aufarbeitung der Proben erfolgte spätestens 60 Minuten nach der Blut-/Urinentnahme.

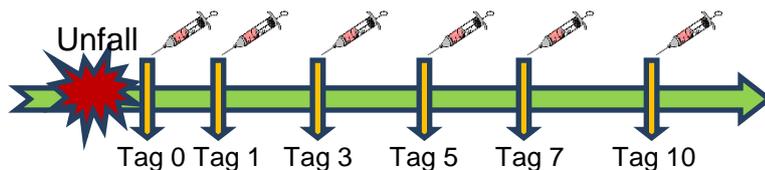


Abbildung 5 Zeitlicher Verlauf der Probenentnahme

2.2. VERWENDETE GERÄTE UND MATERIALIEN

2.2.1. ENDOTOXIN ACTIVITY ASSAY

- Incubating Mini Shaker (VWR International LLC, West Chester, PA, USA)
- Smartline EAA Luminometer (Berthold Detection Systems GmbH, Pforzheim)
- Vortex VX-100 (Labnet International Inc., Edison, NJ, USA)

PATIENTEN, MATERIAL UND METHODEN

- Pipetten: Eppendorf Research 10 µl, Eppendorf Research 100 µl, Eppendorf Research 1000 µl (Eppendorf AG, Hamburg)
- Mehrfachdispenser Handy Step (BRAND GMBH + CO KG, Wertheim)
- DNase, RNase, DNA, RNA und pyrogenfreie Pipettenspitzen: epTIPS 50-1000 µl, Biopur Combitips plus 0,5 ml (Eppendorf AG, Hamburg)
- TipOne 101-1000 µl Filter Tips (Starlab GmbH, Ahrensburg)
- Endotoxin Activity Assay Kit (Spectral Diagnostics Inc., Toronto, CA, USA)

2.2.2. DURCHFLUSSZYTOMETRIE

- Vortex VX-100 (Labnet International Inc., Edison, NJ, USA)
- Thermostat MGW Lauda MS (Fa. MGW Lauda, Lauda-Königshofen)
- Durchflusszytometer COULTER EPICS XL with ADC (Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA)
- Pipetten: Eppendorf Research 10 µl, Eppendorf Research 100 µl (Eppendorf AG, Hamburg)
- Pipettenspitzen: epTIPS 0,5-20 µl, epTIPS 2-200 µl, epTIPS 50-1000 µl (Eppendorf AG, Hamburg)
- BD Falcon 5 ml (BD Biosciences, San Jose, CA, USA)
- Antikörper: BD Pharmingen PE mouse anti-human CD142, BD Biosciences, San Jose, CA, USA, IgG1(Mouse)-PC5, IgG1(Mouse)-PE, IgG2a(Mouse)-ECD, HLA-DR-PC5, CD14-ECD, CD45-PC5, CD14-FITC (Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA)
- OptiLyse C Lysing Solution (Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, USA)
- Phosphat-gepufferte-Saline (PBS), pH 7,2, (Natriumchlorid 5,48 g, di-Natriumhydrogen-phosphatdihydrat 10,12 g, Kaliumdihydrogenphosphat 2,28 g, Wasser für Injektionszwecke ad 1000 ml) (Apotheke Klinikum Innenstadt)

2.2.3. LBP-MESSUNG

- Vortex VX-100 (Labnet International Inc., Edison, NJ, USA)
- Pipetten: Eppendorf Research 10 µl, Eppendorf Research 1000 µl (Eppendorf AG, Hamburg)
- Pipettenspitzen: epTIPS 0,5-20 µl, epTIPS 50-1000 µl (Eppendorf AG, Hamburg)
- Immulite (Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn)

2.2.4. HMGB-1-MESSUNG

- Vortex VX-100 (Labnet International Inc., Edison, NJ, USA)
- Pipetten: Eppendorf Research 10 µl, Eppendorf Research 100 µl, Eppendorf Research 1000 µl, 8-Kanal Mikropipette Eppendorf Research 300 µl (Eppendorf AG, Hamburg)
- Pipettenspitzen: epTIPS 0,5-20 µl, epTIPS 30-300 µl, epTIPS 50-1000 µl (Eppendorf AG, Hamburg)
- Orbitalschüttler MTS 2 (IKA Labortechnik, Staufen)
- VERSA max Microplate Reader (Molecular Devices, California, USA)
- Brutschrank B5060 EK-CO2 (Heraeus, Hanau)

2.2.5. PLASMABANK

- Pipette: Eppendorf Research 1000 µl (Eppendorf AG, Hamburg)
- Pipettenspitzen: epTIPS 50-1000 µl (Eppendorf AG, Hamburg)
- Tischzentrifuge Hettich Rotanta/S (Hettich AG, Bäch, CH)
- CryoTubes Vials 1 ml (Nunc A/S, Roskilde, DK)

2.2.6. URINBANK

- Pipette: Eppendorf Research 1000 µl (Eppendorf AG, Hamburg)
- Pipettenspitzen: epTIPS 50-1000 µl (Eppendorf AG, Hamburg)
- CryoTubes Vials 1 ml (Nunc A/S, Roskilde, DK)

2.3. METHODEN

2.3.1. ENDOTOXIN ACTIVITY ASSAY

Der Endotoxin Activity Assay (EAA) ist ein, von der Firma Spectral Diagnostics Inc., Toronto, Kanada entwickelter Test zur Detektion von gebundenem und freiem LPS im Vollblut. Im Vergleich zu dem bislang verwendeten Limulus-Amöbozyten-Lysat-Test (LAL) liegt die Neuerung des hier verwendeten EAA-Tests in der direkten Bestimmung der Endotoxinaktivität in Vollblut [123]; für den LAL-Test, bei dem das Vorhandensein von Endotoxin in einer kristalloiden Lösung zur Koagulation der Hämolymphe des

Pfeilschwanzkrebsses (*Limulus polyphemus*) führt, ist zuvor die Aufarbeitung des Blutes nötig [124]. Zudem ist der LAL-Test anfällig für äußere Störfaktoren wie Heparin, EDTA oder verschiedene Antibiotika [125] und er scheint falsch positive Ergebnisse bei hohen Konzentrationen von gram-positiven Erregern oder *Candida*-Spezies im Blut zu liefern [35]. Dieses Problem konnte durch Neutralisation entsprechender Proteine verbessert werden. Das größte Manko des LAL-Test ist jedoch, dass biologisch aktives, aber an Zellmembranen oder anderen Proteinen (wie LBP, löslicher CD14 Rezeptor, HDL oder LDL (low density lipoprotein)) gebundenes Endotoxin nicht bestimmt werden kann [126]. Daher liegt die wesentliche Neuerung des EAA-Test, neben der geringeren Störanfälligkeit, in der Bestimmung der Aktivität von Endotoxin in freier und gebundenen Form. Die Messung der Endotoxinaktivität beim EAA basiert auf dem Prinzip der Chemolumineszenz (Abbildung 6) [123, 127].

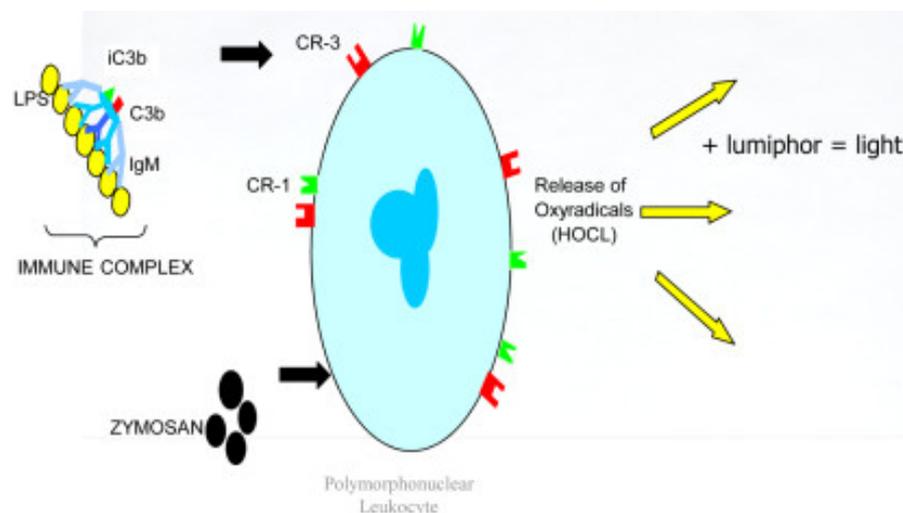


Abbildung 6 Prinzip des Endotoxin Activity Assays; aus [127]

Die Reaktion läuft im Detail wie folgt ab: LPS, Anti-LPS-Antikörper und Komplementproteine (C3b) bilden einen Immunkomplex, welcher über den Complement Rezeptor (CR) 1 an den neutrophilen Granulozyten bindet. Dieser Komplex löst eine Voraktivierung der Zellen aus. Durch dieses „Priming“ ist eine höhere Sauerstoffradikalfreisetzung auf das Zymosan hin möglich. Das Zymosan, ein Glykan aus der Wand von Hefen, bindet über den CR3-Rezeptor, an den neutrophilen Granulozyten und bewirkt dadurch eine Ausschüttung der Sauerstoffradikale im „Oxidativen Burst“. Die freigesetzten Oxidantien reagieren mit dem Luminol aus dem Reaktionsansatz und lösen die Chemolumineszenz aus, die vom Luminometer detektiert wird.

Zur Durchführung der Messung ist ein sogenanntes „EAA Kit“, bestehend aus einem „Aliquot-“ und „LPS max tube“ für die Inkubation des Vollblutes und jeweils 3 Röhrchen in Doppelbestimmung für die eigentliche Messung nötig. Die einzelnen Röhrchen enthalten

PATIENTEN, MATERIAL UND METHODEN

Kügelchen, die mit Stabilisatoren und für den Reaktionsablauf nötigen Reagenzien, angereichert sind. Das „Aliquot-tube“ ist leer und dient der Inkubation des reinen Probenblutes; das „LPS max tube“ ist mit 2,3 ng Endotoxin (E. coli 055:B5) gefüllt, da darin für den Höchstwert das Blut mit LPS angereichert wird. „Tube 1“ enthält nur Luminol-Zymosan zur Bestimmung des unspezifischen oxidativen Bursts des Patienten. „Tube 2“ und „Tube 3“ weisen mit 1,0-2,0 µg murinem monoklonalem Anti-Endotoxin-Antikörper und Luminol-Zymosan versetzte Kügelchen auf. Das mit dem LPS angereicherten Blut aus dem „LPS max tube“ gefüllte „Tube 3“ liefert, durch den Überschuss an exogenem Endotoxin, den für die Neutrophilen des Patienten größtmöglichen oxidativen Burst.

Zur Durchführung ist 1 ml EDTA-Vollblut notwendig, das innerhalb von 180 min nach Abnahme verarbeitet werden muss. Von diesem wird mit pyrogenfreien Pipettenspitzen, um eine Kontamination zu vermeiden (analog bei allen weiteren Schritten), je 500 µl in das „Aliquot-“ und „LPS max tube“ pipettiert. Diese werden anschließend geschüttelt und für 10 min bei 37 °C und 250 U/min im Rüttelinkubator inkubiert. In der Zwischenzeit werden die Röhren für die Messung (Tubes 1-3) mit 1 ml der EAA Reagenz befüllt. Die Pufferlösung besteht aus HBSS (Hanks' Balanced Salt Solution) und Heparin. Nach erneutem Schütteln, werden im Anschluss an die Inkubation aus dem „Aliquot-tube“ mit einer Multipipette und den entsprechenden pyrogenfreien Spitzen 40 µl in jeweils das erste und zweite Röhren der Doppelbestimmung pipettiert; aus dem „LPS-Max-tube“ werden ebenfalls je 40 µl in die dritten Röhren pipettiert. Nach erneutem Schütteln aller 6 Röhren werden diese für 14-16 min bei 37 °C im Rüttelinkubator (250 U/min) inkubiert.

Nach Beendigung der Inkubation werden die Röhren der Reihe nach (zuerst Tubes 1-3, danach Tubes 1-3 der Doppelbestimmung) geschüttelt und in das Luminometer zur Analyse gegeben. Das Luminometer zählt die Photonen, die bei Reaktionen, hier dem „Oxidativen Burst“ freigesetzt werden und gibt die Reaktionsstärke in RLU (Relative Light Units) an. Die RLU werden automatisch in „Endotoxin Activity Units“ (EAU), eine dimensionslose Einheit, umgerechnet. Die EAU werden in Werten von 0 bis 1,0 angegeben und sind als Verhältnis von Probenwert zu Null- und größtmöglichem, mit LPS induzierbarem Wert, zu verstehen.

Für die Interpretation der Werte gibt es drei Ergebnisbereiche: 0,0 bis 0,39 EAU steht für eine niedrige Endotoxinaktivität im Blut – eine Infektion mit gram-negativen Bakterien ist unwahrscheinlich. Werte größer als 0,40 sprechen für eine Endotoxinämie bzw. für eine Infektion mit gram-negativen Bakterien. 0,40 bis 0,59 EAU bedeuten eine mittlere und größer bzw. gleich 0,60 für eine hohe Endotoxinaktivität im Probenblut. Bei Werten größer als 0,60 ist die Entwicklung einer Sepsis laut Herstellerangaben wahrscheinlich.

2.3.2. DURCHFLUSSZYTOMETRIE

Das Prinzip der Durchflusszytometrie basiert auf Zellen, die perlschnurartig aneinandergereiht, durch einen Laserstrahl passieren und so Signale erzeugen, die über eine Software angezeigt werden können. So sind beispielsweise Aussagen über die Größe, Granularität und die Fluoreszenz von Farbstoffen möglich [128, 129]. Eine isotonische Flüssigkeit, die als Hüllstrom („Sheath“) bezeichnet wird, umhüllt die innere Probenlösung, die mit Druck zur Durchflusszelle transportiert wird, und zentriert sie in ihrer Mitte. Durch den Druck des äußeren Hüllstroms auf die innere Probenlösung entsteht eine perlschnurartige Reihung der Zellen, was als „hydrodynamische Fokussierung“ bezeichnet wird [130]. In der sogenannten Messzelle kreuzen die Zellen der Reihe nach einen Laserstrahl, wodurch das auf die Zelle treffende Licht gestreut wird [129]. Das von der Zelle abgelenkte Licht des Laserstrahls wird als „Vorwärtsstreulicht“ (Forward Scatter) und „Seitwärtsstreulicht“ (Side Scatter) erfasst [128]. Der „Forward Scatter-Detektor“ wandelt das Licht in einen Spannungsimpuls um, der proportional zur Partikelgröße ist. Neben der Größe wird auch die Granularität der Zellen über das „Seitwärtsstreulicht“ gemessen.

Außerdem können Fluorochrome, in Form von Antikörpern, in oder auf Zellen gebunden werden [128]. Hier wurden Fluoresceinisothiocyanat (FITC), R-Phycoerythrin (PE), sowie die Tandemkonjugate PE-Cy5 (Phycoerythrin und Cyan 5) und ECD (R-PE und Texas-Red) verwendet. Fluorochrome werden durch die Energie des Laserlichts angeregt und emittieren Fluoreszenzen verschiedener Farben [129, 130] (Tabelle 7). Dieses emittierte Licht wird von einer Sammeloptik aufgefangen und den vier Hochleistungsfotoverstärkerröhren mit „Bandpassfiltern“ 525 nm (FITC), 575 nm (PE), 620 nm (ECD) und dem „Longpassfilter“ >675 nm (PE-Cy5) zugeführt. Hier werden die Lichtimpulse eingefangen, optoelektronisch verstärkt und an die Datenverarbeitung weitergeleitet.

Tabelle 7 Absorptions- und Emissionsspektren der verwendeten Fluorochrome

Fluorochrom	Exzitationsmaximum (nm)	Emissionsmaximum (nm)	Lasieranregung (nm, Argon)
FITC	495	520	488
PE	495, 564	576	488
PE-Cy5	495, 565, 650	670	488
PE-Texas Red	564	615	488

Zur quantitativen Auswertung der gespeicherten Originaldaten (list-mode) erfolgt die Datenausgabe über eindimensionale Histogramme oder bivariate Streudiagramme (dot plots) mit linearer oder mit 4-Dekaden-Log Skalierung. Die „Ein-Parameter-Histogramme“

PATIENTEN, MATERIAL UND METHODEN

stellen die mittlere Fluoreszenzintensität (MFI) als indirektes Maß der Expressionsstärke dar; die bivariaten „dot plots“ die Koexpression auf den einzelnen Zellen.

Zur Antikörperinkubation wurde in jedes der drei BD Falcon 5 ml Röhren 25 µl EDTA-Vollblut gegeben und dieses mit fluoreszierenden Antikörpern versetzt:

Röhren 1: (als Isotypkontrolle)

je 2,5 µl IgG2a FITC, IgG1 PE, IgG2a ECD, IgG1 PC5

Röhren 2: (zur Bestimmung des Rezeptorstatus für HLA-DR etc. auf den Monozyten)

5 µl CD284 FITC, 5 µl CD142 PE, 2,5 µl CD14 ECD, 15 µl HLA-DR PC5

Röhren 3: (Anteil der Monozyten an der Leukozytengesamtpopulation)

je 2,5 µl CD14 FITC, CD45 PC5

Die Röhren wurden gemixt und für 20 min im Kühlschrank bei 4 °C inkubiert. Zur Lyse der Zellen wurde in jedes Röhren unter ständigem Schütteln 250 µl Optilyse C dazu pipettiert und diese gleich darauf für 10-20 min in ein 37 °C warmes Wasserbad gestellt. Die Zeit im Wasserbad richtete sich nach dem Verlauf der Lyse in der Probe. Nach erfolgter Lyse mussten die Röhren für 10 min in Dunkelheit ruhen. Vor der Messung im Durchflusszytometer wurde jedem Röhren 250 µl PBS zugegeben und dieses geschüttelt. Die Messung der Proben erfolgte in der Reihenfolge der Röhren.

2.3.3. LBP-MESSUNG

Die Bestimmung des LPS-Bindenden Proteins erfolgte aus zurückgestellten Plasmaproben. Zur Anwendung kam das kommerziell erwerbliche Kit von Siemens Healthcare Diagnostics GmbH; ein auf dem Prinzip der Chemolumineszenz basierender Test für Immulite Geräte (Firma Siemens). Er ermöglicht die quantitative Messung des LBP Gehalts aus Serum und Plasma Proben. Entsprechend den Herstellerangaben wurde das aufgetaute Plasma im Verhältnis 1:101 mit LBP-Probenverdünner vorverdünnt, bevor es in die entsprechenden Teströhren gegeben wurde. Als Referenzwerte für gesunde Freiwillige wurden 2,0 µg/ml bis 15,2 µg/ml (Mittelwert 5,3 µg/ml) vom Hersteller angegeben.

2.3.4. HMGB-1 -MESSUNG

Zur quantitativen Bestimmung von High-Mobility-Group-Box-1 Protein in den Plasmaproben wurden kommerziell erhältliche enzymvermittelte Immunoassays (ELISA) der Firma IBL

International GmbH (Hamburg) verwendet. Der Sandwich-Enzymimmunoassay kann in Serum- oder Plasmaproben durchgeführt werden. Laut Hersteller sind die Wells der Mikrotiterstreifen mit aufgereinigtem anti-HMGB-1 Antikörper beschichtet, der spezifisch das HMGB-1 aus der Probe bindet. Die Nachweisgrenze lag bei 0,2 ng/ml. Die Messungen erfolgten im sensitiven Bereich mit einem höchsten Standard von 10 ng/ml.

2.3.5. CATHEPSIN X-MESSUNG

Die Messung der Cathepsin X Konzentration in den zurückgestellten Plasmaproben erfolgte durch einen nicht kommerziell erhältlichen ELISA. Die genaue Methodik wurde von Nögler et al. 2006 beschrieben [96]. Die Messungen wurden aus den aliquotierten und eingefrorenen Serumproben im Labor von PD Dr. Dorit Nögler, Klinikum der Universität München, Standort Innenstadt durchgeführt.

2.3.6. PMN-ELASTASE-MESSUNG

Zur Messung der PMN-Elastase aus den Plasmaproben wurde ein kommerziell erhältliches ELISA-Kit der Firma Milenia Biotec GmbH, Gießen, mit einem Standardbereich von 12,5-1000 ng/ml verwendet. Bei einer vom Hersteller durchgeführten Normbereichsstudie lag der Median bei 35 ng/ml und die 95%-Perzentile bei 64,9 ng/ml. Die Messungen wurden aus den aliquotierten und eingefrorenen Serumproben im Labor von PD Dr. Dorit Nögler, Klinikum der Universität München, Standort Innenstadt durchgeführt.

2.3.7. NEOPTERIN-MESSUNG

Das Neopterin wurde im Verhältnis zu den Kreatininwerten aus den eingefrorenen Urinproben bestimmt. Dies geschah über einen kommerziell erhältlichen ELISA der Firma Thermo Fisher Scientific Clinical Diagnostics B·R·A·H·M·S GmbH; die Messung wurde von Herrn Prof. Dr. Dietmar Fuchs von der Abteilung für Biochemie der Medizinischen Fakultät Innsbruck durchgeführt. Die genaue Methode wurde von Mayersbach et al. beschrieben [131]. Die Normwerte wurden 1989 von Wächter et al. dargestellt [132].

2.3.8. PLASMABANK

Aus dem Patientenblut wurde Plasma gewonnen und dies bis zur einer späteren Messung verschiedener immunologische Parameter eingefroren. Hierfür wurde 18 ml EDTA-Vollblut bei 3000 U/min für 20 min zentrifugiert und das Plasma aus dem Überstand in 10 CryoTubes pipettiert – je nach Zusammensetzung des Patientenblutes bis zu 1 ml Plasma pro Röhrchen. Die mit Pseudonym und Datum beschrifteten Röhrchen wurden dann bei -80 °C eingefroren.

2.3.9. URINBANK

Ebenso wurde für eine spätere Bestimmung von Immunparametern aus dem Urin, dieser zeitgleich mit dem Blut abgenommen, und in 10 CryoTubes zu je 1 ml pipettiert. Diese mit Pseudonym und Datum beschrifteten Röhrchen wurden dann bei -80 °C eingefroren.

2.4. STATISTISCHE AUSWERTUNG

Die Ergebnisse der Durchflusszytometrie werden als mittlere Fluoreszenzintensität (MFI), die aus dem geometrischen Mean gebildet wurde, zur Abschätzung des Expressionsgrades dargestellt. Die übrigen Ergebnisse werden als Median mit dem Interquartilenabstand angegeben. Unterschiede zwischen den Stichproben (Vergleich der Patientenwerte an konsekutiven Tagen) wurden mit einer einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) für parametrische Daten oder im Falle nicht-parametrischer Daten mit der Kruskal-Wallis ANOVA für Ränge erfasst. Die minimal geforderte Signifikanz für die anschließend paarweise durchgeführten post-hoc Mehrfachvergleiche nach Dunn bzw. Holm-Sidak war für $p < 0,05$ definiert. Die graphische Darstellung erfolgte über sogenannte Boxplots. Die Boxplots stellen in der Box den Interquartilbereich dar. Die Linie innerhalb der Box beschreibt den Median, die nach außen führenden Linien markieren die 5. bzw. 95. Perzentile.

Die Korrelationen zwischen der Endotoxinaktivität und den weiteren untersuchten Parametern wurden nach Spearman mit einer Signifikanz für $p < 0,05$ berechnet und graphisch als Streudiagramm mit Regressionsgerade dargestellt.

Das Auftreten einer Sepsis bzw. der Nachweis gram-negativer Bakterien wurde in Vier-Felder-Tafeln mit der Endotoxinaktivität abhängig von dem Verletzungsmuster erfasst und statistisch mit dem Fisher-Exact-Test ausgewertet.

Die elektronische Auswertung der Daten erfolgte mit dem Programm SigmaPlot 10.0 und 13.

3. ERGEBNISSE

3.1. EPIDEMIOLOGISCHE DATEN

In die Studie wurden 13 Schwerbrandverletzte und 15 Polytraumapatienten eingeschlossen (Tabelle 8). Der überwiegende Anteil war männlichen Geschlechts (82% bzw. 87%). Das Durchschnittsalter lag bei den Schwerbrandverletzten mit 52 Jahren über dem der Polytraumapatienten (29 Jahre). Die Polytraumapatienten erreichten einen mittleren ISS von 29 Punkten. Bei den Schwerbrandverletzten lag die durchschnittliche verbrannte Körperoberfläche bei 29 % 2. und 3. gradiger Verbrennungen. Drei der 13 Patienten (23%) erlitten zusätzlich ein IHT. Beide Patientengruppen erreichten ähnliche viele SAPS II Punkte am Tag 1 (36 bei Schwerbrandverletzten und 32 bei Polytraumapatienten). 39% der Schwerbrandverletzten verstarben während ihres Aufenthaltes auf der Intensivstation; dahingegen nur 13% der polytraumatisierten Patienten. Die aus dem ABSI bzw. RISC Score errechnete Überlebenschance lag bei 60% bei den Schwerbrandverletzten und bei 96% bei den Polytraumapatienten. Bis auf einen Patienten entwickelten alle Schwerbrandverletzten ein MOV (92%). Der höchste durchschnittliche SOFA-Score innerhalb des Beobachtungszeitraums lag bei 12 Punkten. Bei den Polytraumapatienten waren es mit 47% knapp die Hälfte, die ein MOV entwickelten. Der höchste durchschnittliche SOFA-Score betrug 11 Punkte. Alle eingeschlossenen Patienten hatten an mindestens einem Tag im Beobachtungszeitraum ein SIRS. Bei den Sepsisraten zeigte sich ein deutlicher Unterschied zwischen den Patientenkollektiven. 47% bei den Polytraumapatienten und 100% bei den Schwerbrandverletzten zeigten an mindestens einem Tag eine Sepsis gemäß der Definition von Bone et al. In 84,6% der Schwerbrandverletzten gelang auch der mikrobiologische Nachweis einer gram-negativen Infektion; bei den Polytraumapatienten waren es lediglich 26,7%. Es wurden 92,3% der Schwerbrandverletzten und 86,7% der Polytraumapatienten antibiotisch behandelt (antibiotische Therapie über mindestens zwei aufeinanderfolgende Tage). Ebenso wiesen die Schwerbrandverletzten einen deutlich längeren Aufenthalt auf der Intensivstation (36 Tage), sowie eine wesentlich längere Beatmungsdauer mit 32 Tagen auf; nach Polytrauma waren die Patienten 7 Tage auf der Intensivstation und wurden im Mittel 2 Tage maschinell beatmet.

ERGEBNISSE

Tabelle 8 In die Studie eingeschlossene Patienten aufgeteilt nach Verletzungsmuster; dargestellt ist, falls nicht anders angegeben, der Median mit Interquartilbereich

	Schwerbrandverletzte	Polytrauma
eingeschlossene Patienten	13	15
Verletzungsschwere	29,0 (25,8-45) (% VKOF II°/III°)	29,0 (25,0-34,0) (ISS Punkte)
SAPS II Score Tag 1 (Punkte)	36,0 (28,0-61,5)	32,0 (23,0-34,0)
männlich (%)	82	87
Alter (Jahren)	52,0 (29,0-67,0)	29,0 (22,0-37,0)
Verstorben (%)	39	13
Errechnete Überlebenschance (%)	60,0 (45,0-85,0) (Prognose nach ABSI-Score)	96,0 (93,0-97,3) (Prognose nach RISC Score)
MOV (%)	92	47
SOFA Score (max. Punkte an einem Beobachtungstag)	12,0 (11,5-15,0)	11,0 (9,0-12,0)
SIRS (%)	100	100
Sepsis (%)	100	47
Mikrobiolog. Nachweis gram-neg. Bakterien (%)	84,6	26,7
Prozentsatz der mit Antibiotika behandelten Patienten	92,3	86,7
ICU-Dauer (Tagen)	36,0 (17,0-44,5)	7,0 (5,0-14,0)
Beatmungsdauer (Tagen)	32,0 (15,0-39,0)	2,0 (1,0-7,0)

3.2. ÜBERSICHT ÜBER DIE ERGEBNISSE

An den Tagen 0, 1, 3, 5, 7 und 10 nach Trauma wurden bei den in die Studie eingeschlossenen Patienten Endotoxin, LBP-, CRP-, Leukozyten- und Laktatwerte, die Konzentrationen für HMGB-1, Cathepsin-X und PMN-Elastase, der Neopterin/Kreatinin Quotient und die Expressionsstärke des HLA-DR erhoben (Tabelle 9).

ERGEBNISSE

Tabelle 9 Übersicht der an den Studientagen erhobenen Parameter aufgeteilt nach Verletzungsmuster (BT: Schwerbrandverletzte, PT: Polytraumapatienten); angegeben ist der Median mit Interquartilenabstand, sowie die Probengröße n

	Tag 0	Tag 1	Tag 3	Tag 5	Tag 7	Tag 10
Endotoxin-Aktivität (EAU)						
BT	0,18 (0,12-0,19) (n3)	0,33 (0,25-0,50) (n13)	0,72 (0,62-0,90) (n13)	0,65 (0,61-0,87) (n12)	0,67 (0,58-0,82) (n10)	0,75 (0,65-0,81) (n11)
PT	0,40 (0,31-0,47) (n3)	0,49 (0,37-0,58) (n15)	0,54 (0,33-0,70) (n15)	0,47 (0,36-0,65) (n14)	0,50 (0,37-0,61) (n12)	0,47 (0,32-0,54) (n12)
LBP (µg/ml)						
BT	4,70 (3,70-6,30) (n3)	9,20 (7,85-18,40) (n13)	24,50 (20,45-35,95) (n13)	21,45 (15,05-31,83) (n12)	30,50 (19,00-34,50) (n11)	30,70 (22,10-39,50) (n11)
PT	4,00 (2,60-5,00) (n3)	23,30 (18,10-35,90) (n15)	26,70 (19,90-33,40) (n15)	23,55 (15,35-29,88) (n14)	19,20 (13,45-25,35) (n12)	13,60 (9,48-25,88) (n12)
CRP (mg/dl)						
BT	0,10 (0,10-2,05) (n9)	9,40 (5,60-15,50) (n13)	21,45 (17,85-28,30) (n12)	15,40 (13,35-22,70) (n12)	16,00 (14,20-20,40) (n11)	20,90 (16,20-23,15) (n10)
PT	0,30 (0,15-2,35) (n5)	7,25 (1,33-10,53) (n14)	17,20 (11,10-22,40) (n13)	9,90 (8,40-16,80) (n11)	7,80 (6,78-17,43) (n8)	7,30 (5,20-14,68) (n8)
Leukozyten (G/l)						
BT	16,90 (12,80-20,30) (n11)	12,80 (4,45-19,20) (n13)	6,10 (3,90-7,95) (n13)	8,85 (8,00-11,38) (n12)	17,00 (11,70-19,10) (n11)	15,40 (12,90-19,70) (n11)
PT	12,90 (6,60-17,10) (n15)	6,85 (6,15-10,28) (n14)	8,15 (5,95-12,15) (n14)	7,95 (6,05-9,88) (n14)	9,95 (6,65-11,00) (n8)	14,40 (11,25-16,85) (n9)
Laktat (mmol/l)						
BT	6,45 (4,90-9,44) (n9)	5,10 (3,10-5,43) (n11)	2,68 (2,04-3,23) (n10)	1,55 (1,17-1,95) (n10)	1,50 (1,08-1,97) (n9)	1,73 (1,05-2,45) (n8)
PT	2,51 (1,90-5,57) (n12)	2,20 (1,40-2,60) (n15)	0,87 (0,80-1,83) (n11)	0,90 (0,60-1,20) (n7)	1,50 (0,74-2,10) (n5)	1,14 (1,10-1,17) (n2)
HMGB-1 (ng/ml)						
BT	13,93 (7,88-21,79) (n3)	6,01 (3,40-12,13) (n13)	2,63 (1,76-3,03) (n13)	2,68 (1,80-3,49) (n12)	2,85 (2,27-3,25) (n11)	2,36 (2,02-3,42) (n11)
PT	20,55 (4,59-24,97) (n3)	2,02 (1,43-2,53) (n15)	1,28 (0,99-1,53) (n15)	1,45 (1,08-1,59) (n14)	1,29 (1,17-1,47) (n12)	1,51 (1,13-2,09) (n12)
Cathepsin-X (ng/ml)						
BT	56,00 (53,00-88,00) (n3)	81,00 (58,50-109,50) (n13)	118,00 (95,00-145,00) (n13)	116,50 (89,75-156,25) (n12)	124,00 (92,00-148,00) (n11)	126,00 (86,00-135,00) (n11)
PT	68,00 (29,00-94,00) (n3)	84,00 (72,00-99,00) (n15)	84,00 (73,00-127,00) (n15)	71,00 (60,25-101,00) (n14)	61,50 (53,50-68,00) (n12)	60,50 (48,00-74,25) (n12)
PMN-Elastase (ng/ml)						
BT	157,80 (134,60-169,80) (n3)	156,30 (113,30-223,05) (n13)	132,20 (102,70-149,60) (n13)	75,65 (70,10-93,68) (n12)	56,70 (50,60-68,80) (n11)	51,10 (42,60-61,80) (n11)
PT	97,00 (61,60-149,00) (n3)	101,80 (82,40-117,60) (n15)	75,40 (62,30-90,60) (n15)	63,90 (43,78-73,90) (n14)	51,80 (31,80-57,90) (n12)	40,45 (28,98-52,73) (n12)
Neopterin/Kreatinin-Quotient (µmol/mol)						
BT	179,96 (171,21-266,30) (n3)	202,40 (174,60-337,40) (n13)	312,53 (250,08-443,14) (n12)	392,23 (246,28-491,49) (n10)	410,08 (309,81-528,73) (n10)	705,52 (424,42-779,68) (n11)
PT	176,22 (n1)	181,81 (142,61-284,31) (n5)	235,88 (165,75-304,11) (n5)	229,76 (200,97-420,06) (n5)	266,66 (228,52-385,07) (n4)	340,56 (256,80-401,35) (n4)
HLA-DR (MFI)						
BT	7,16 (5,56-11,17) (n3)	5,36 (3,95-6,85) (n13)	4,22 (3,58-4,92) (n13)	3,38 (2,96-4,08) (n12)	3,43 (2,74-4,20) (n11)	3,91 (3,15-4,84) (n11)
PT	12,40 (6,04-13,19) (n3)	4,87 (4,10-6,56) (n6)	3,50 (3,01-5,42) (n6)	5,19 (3,94-6,42) (n5)	3,53 (2,86-6,81) (n3)	4,94 (4,14-9,13) (n4)

3.3. ENDOTOXINAKTIVITÄT

Die Messung der Endotoxinaktivität zeigte sehr unterschiedliche Ergebnisse in beiden Patientenkollektiven. In der Gruppe der Schwerbrandverletzten stellte sich ein einheitlicherer Verlauf dar (Tabelle 10, Abbildung 7), bei dem alle Patienten an mindestens einem Beobachtungstag hohe LPS-Konzentrationen im Blut zeigten. Am Tag des Unfalls hatten alle gemessenen Patienten, und am Tag 1 85% der Patienten niedrige oder mittlere Endotoxinaktivitätslevel. Diese stiegen am Tag 3 auf 0,72 (0,62-0,90) EAU im Mittel an und hielten sich im weiteren Beobachtungszeitraum auf dem hohen Niveau. Über die Hälfte der Patienten (54%) hatte bei allen weiteren Messungen einen Endotoxinaktivitätslevel, der über 0,60 EAU und damit im hohen Wertebereich lagen. An den einzelnen Beobachtungstagen ab Tag 3, zeigten zwischen 80% (Tag 7) und 85% (Tag 3) der Patienten einen hohen Level der Endotoxinaktivität. Keiner der Verbrennungspatienten sank nach dem initialen Anstieg auf eine Endotoxinaktivität im niedrigen Wertebereich ab. So zeigten die Werte der Tage 1 bis 10 eine signifikante Differenz ($p < 0,05$) und die Tage 3 bis 10 sogar eine hoch signifikante Differenz ($p < 0,001$) verglichen mit denen vom Unfalltag.

Eine wesentlich inhomogenere Verteilung war bei den Polytraumapatienten zu beobachten (Tabelle 11, Abbildung 8). In dieser Gruppe war an den ersten beiden Tagen vorrangig eine niedrige und mittlere Endotoxinaktivität zu messen. Im weiteren Verlauf entwickelten 73% der Patienten eine hohe Endotoxinaktivität. Ab dem dritten Tag nach Trauma hatten nur zwischen 8% (Tag 10) und 42% (Tag 7) der Polytraumapatienten eine hohe Endotoxinaktivität. Es blieb aber auch keiner der Polytraumapatienten im gesamten Beobachtungszeitraum im niedrigen Bereich der Endotoxinaktivität. So schwankte die Endotoxinaktivität im Verlauf durchschnittlich zwischen 0,40 (0,31-0,47) EAU (Tag 0) und 0,54 (0,33-0,70) EAU am Tag 7 ohne statistische Signifikanz gegenüber Tag 0.

In der Gruppe der Polytraumapatienten besteht keine so eindeutige Übereinstimmung zwischen einer hohen Endotoxinaktivität und der klinischen Diagnose Sepsis; bei lediglich fünf Polytraumapatienten ließ sich bei hoher Endotoxinaktivität auch eine Sepsis (anhand der Bone Kriterien) nachweisen (bei sechs Patienten bestand trotz hoher Endotoxinaktivität keine klinische Sepsis). Bei zwei Patienten mit klinischer Sepsis-Diagnose wurden jeweils nur mittlere Endotoxinaktivität gemessen, wobei in einem dieser beiden Fälle auch nur gram-positive Keime nachgewiesen werden konnten (Tabelle 11, Tabelle 14, Tabelle 15). Die statistische Auswertung lieferte dementsprechend auch keine Signifikanz zwischen einer hohen Endotoxinaktivität und dem klinischen Nachweis einer Sepsis ($p = 1,0$). Bei den Schwerbrandverletzten konnte eine deutliche Beziehung zwischen dem Auftreten einer Sepsis und der Endotoxinaktivität beobachtet werden. Hier zeigten alle Patienten an

ERGEBNISSE

mindestens einem Tag hohe EAU Werte und alle Patienten erfüllten die Sepsiskriterien nach Bone. Bei 11 von ihnen (84,6%) gelang auch mikrobiologisch der Nachweis einer gram-negativen Infektion (Tabelle 10, Tabelle 12, Tabelle 13). Eine statistische Auswertung ist formal nicht möglich (Wert 0 in der Vier-Felder-Tafel), wobei die Ergebnisse eindeutig sind.

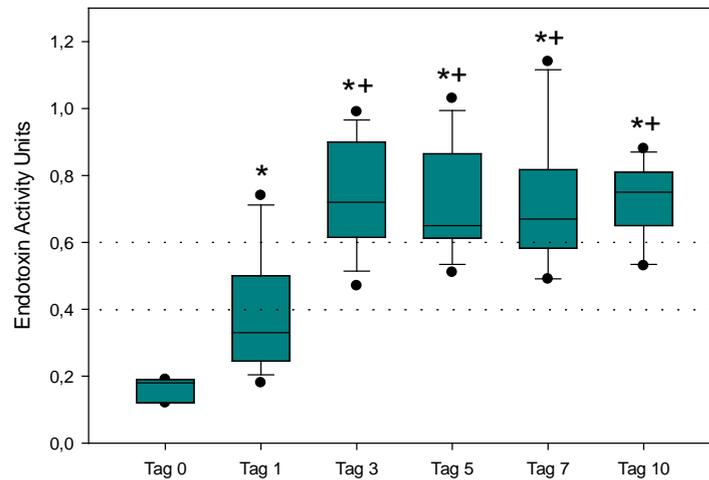


Abbildung 7 Verlauf der Endotoxinaktivität bei Schwerbrandverletzten. Die gestrichelten Linien stellen die Grenzen zwischen den vom Hersteller angegebenen EAU Bereichen (niedrig, mittel und hoch) dar; * $p < 0,05$ vs. Tag 0, + $p < 0,001$ vs. Tag 0

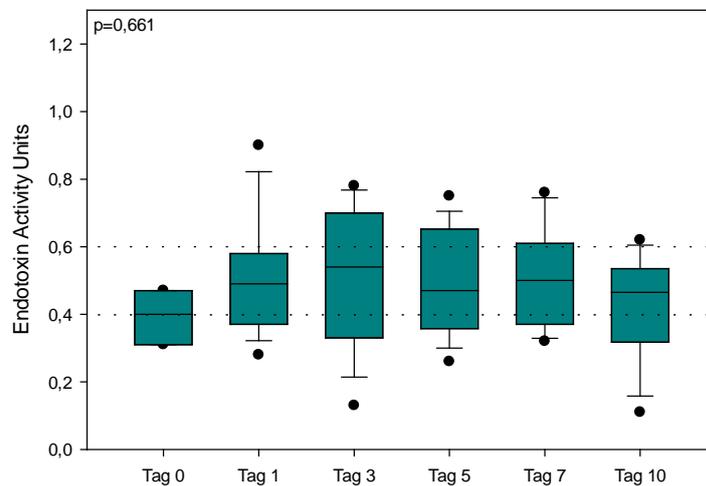


Abbildung 8 Verlauf der Endotoxinaktivität im Blut der Polytraumapatienten; die gestrichelten Linien zeigen die Grenze zwischen niedrigem und mittlerem sowie mittlerem und hohem Aktivitätsbereich.

ERGEBNISSE

Tabelle 10 Zeitlicher Verlauf der Endotoxinaktivität im Blut der Schwerbrandverletzten (BT). Pro Zeile ist der Verlauf eines Patienten dargestellt. Das Ausmaß der Verbrennung (VKOF), ein eventuell vorliegendes Inhalationstrauma (IHT), das Vorliegen eines SIRS oder Sepsis, mikrobiologische Befunde und das klinische Behandlungsergebnis sind in den rechten Spalten dargestellt (x = vorhanden). Die drei Wertebereiche der Endotoxinaktivität sind durch die Hintergrundfarbe abgebildet: grün bedeutet niedrige (< 0,4), gelb mittlere (0,4-0,6) und rot hohe (>0,6) EAU.

Patient	Tag 0	Tag 1	Tag 3	Tag 5	Tag 7	Tag 10	VKOF(%)	SIRS	Sepsis	Keimnachweis			klinisches Ergebnis
										gram-neg	gram-pos	andere	
BT 50		0,25	0,7	0,71	0,79	0,65	21	x	x	x	x	x	Überleben
BT 51		0,24	0,71	0,64	0,5	0,74	25	x	x	x	x	x	† (Tag 36)
BT 52		0,67	0,61	0,61		0,55	29	x	x	x	x	x	† (Tag 23)
BT 53		0,51	0,88				52 + IHT	x	x	x	x		† (Tag 5)
BT 54		0,49	0,93	0,87	1,14	0,76	28 + IHT	x	x	x	x		† (Tag 35)
BT 55		0,33	0,92	0,85	0,77	0,81	46 + IHT	x	x	x	x		Überleben
BT 56		0,27	0,58	0,59	0,61	0,88	27	x	x		x	x	Überleben
BT 57	0,12	0,18	0,62	0,51	0,49	0,7	44	x	x	x	x	x	† (Tag 43)
BT 58	0,19	0,49	0,72	0,65			25,5	x	x		x	x	Überleben
BT 59	0,18	0,28	0,83	0,91	0,67	0,75	50	x	x	x	x		Überleben
BT 60		0,74	0,77	0,65	0,65	0,53	39	x	x	x	x		Überleben
BT 61		0,24	0,99	1,03	0,9	0,83	34	x	x	x	x	x	Überleben
BT 62		0,35	0,47	0,62	0,67	0,76	26	x	x	x	x	x	Überleben

Tabelle 11 Darstellung der Endotoxinaktivität bei Polytraumapatienten (PT) im Beobachtungszeitraum. Jede Zeile beschreibt einen Patienten. Die Verletzungsschwere nach ISS, das Vorliegen eines SIRS oder Sepsis, mikrobiologische Befunde und das klinische Behandlungsergebnis sind in den rechten Spalten zu sehen (x = vorhanden). Die Hintergrundfarbe beschreibt die drei Ergebnisbereiche des EAA: grüner Hintergrund bedeutet niedrige (< 0,4), gelb mittlere (0,4-0,6) und rot hohe (>0,6) Endotoxinaktivität.

Patient	Tag 0	Tag 1	Tag 3	Tag 5	Tag 7	Tag 10	ISS (Punkte)	SIRS	Sepsis	Keimnachweis			klinisches Ergebnis
										gram-neg	gram-pos	andere	
PT 62		0,28	0,66	0,65	0,35	0,34	34	x					Überleben
PT 63		0,5	0,27	0,36	0,49	0,11	22	x					Überleben
PT 64		0,58	0,13	0,34	0,6	0,47	17	x					Überleben
PT 65		0,52	0,78	0,45	0,36		29	x					Überleben
PT 66		0,43	0,33	0,26	0,45	0,51	34	x	x	x	x	x	Überleben
PT 67		0,51	0,27	0,49	0,32	0,31	25	x					Überleben
PT 68		0,48	0,54	0,66	0,51	0,62	29	x	x		x		Überleben
PT 69		0,49	0,54	0,42	0,71	0,46	29	x					Überleben
PT 70		0,64	0,68	0,75	0,76	0,57	34	x	x	x	x	x	Überleben
PT 72		0,35	0,38	0,35	0,4	0,54	34	x	x		x		Überleben
PT 73		0,37	0,76	0,42			29	x					† (Tag 6)
PT 74	0,31	0,43	0,7				50	x					† (Tag 3)
PT 75		0,36	0,42	0,55	0,61	0,27	41	x	x		x	x	Überleben
PT 76	0,4	0,77	0,72	0,66		0,46	21	x	x	x	x	x	Überleben
PT 77	0,47	0,9	0,46	0,65	0,61	0,52	34	x	x	x		x	Überleben

Tabelle 12 maximal gemessene Endotoxinaktivität bei den Schwerbrandverletzten und die Anzahl der Patienten bei denen eine Sepsis nachgewiesen werden konnte (laut Hersteller ist eine gram-negative Sepsis bei einer hohen Endotoxinaktivität wahrscheinlich)

Schwerbrandverletzte	Sepsis	keine Sepsis
hohe EAA	13	0
niedrige und mittlere EAA	0	0

ERGEBNISSE

Tabelle 13 maximal gemessene Endotoxinaktivität bei den Schwerbrandverletzten und die Anzahl der Patienten bei denen gram-negative Bakterien in mikrobiologischen Proben nachgewiesen werden konnten (laut Hersteller ist eine Endotoxinämie ab einer mittleren Endotoxinaktivität wahrscheinlich)

Schwerbrandverletzte	gram negativer Keimnachweis	Nachweis anderer Keime oder kein Keimnachweis
hohe und mittlere EAA	11	2
niedrige EAA	0	0

Tabelle 14 die bei den Polytraumapatienten maximal gemessene Endotoxinaktivität und der entsprechende Nachweis einer Sepsis (laut Hersteller ist eine gram-negative Sepsis bei EAU Werten im hohen Wertebereich wahrscheinlich)

Polytraumapatienten	Sepsis	keine Sepsis
hohe EAA	5	6
niedrige und mittlere EAA	2	2

Tabelle 15 die bei den Polytraumapatienten maximal gemessene Endotoxinaktivität und der entsprechende Nachweis gram negativer Keime in den mikrobiologischen Proben (laut Hersteller ist eine Endotoxinämie bei EAU > 0,4, entsprechend einer mittleren und hohen Endotoxinaktivität wahrscheinlich)

Polytraumapatienten	gram negativer Keimnachweis	Nachweis anderer Keime oder kein Keimnachweis
hohe und mittlere EAA	4	11
niedrige EAA	0	0

3.4. LBP

Die LBP-Werte vom Tag des Unfalls lagen bei den Schwerbrandverletzten bei 4,70 (3,70-6,30) µg/ml bzw. bei den Polytraumapatienten bei 4,00 (2,60-5,00) µg/ml. Die Konzentrationen des LPS-bindenden Proteins stiegen bei den Schwerbrandverletzten (Abbildung 9) im Beobachtungszeitraum kontinuierlich bis zum Tag 10 (30,70 (22,10-39,50) µg/ml) an. Die Werte der Tage 3, 7 und 10 zeigten einen signifikanten Unterschied, verglichen mit denen vom Unfalltag.

In der Gruppe der Polytraumapatienten erreichten die LBP-Werte das Maximum bei 26,70 (19,90-33,40) µg/ml am Tag 3, mit einer statistischen Signifikanz, ebenso wie die Werte von Tag 5, im Vergleich zum Tag 0, und fielen im weiteren Verlauf wieder ab (Abbildung 10).

ERGEBNISSE

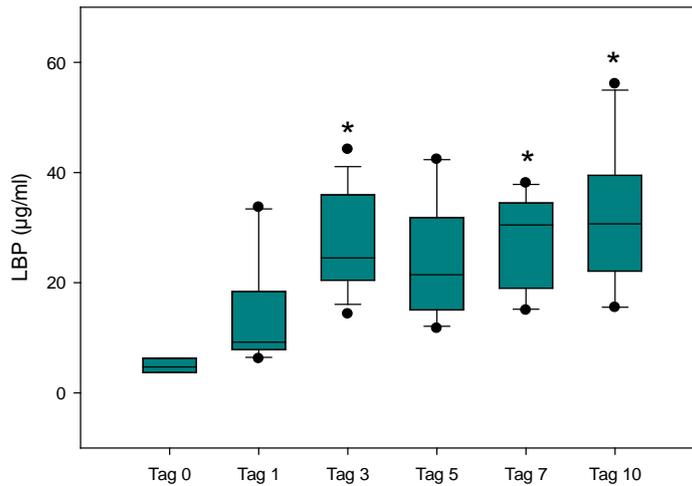


Abbildung 9 Verlauf der LBP-Konzentrationen bei Schwerbrandverletzten; * $p < 0,05$ verglichen mit Tag 0

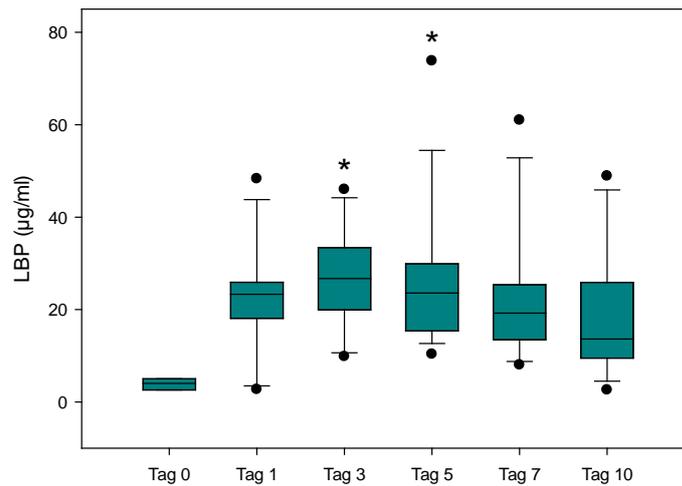


Abbildung 10 Konzentrationen des LPS-bindenden Proteins bei Polytraumapatienten; * $p < 0,05$ vs. Tag 0

3.5. CRP

Sowohl nach Polytrauma als auch nach schwerer Verbrennung waren die höchsten Werte des C-reaktiven Proteins am dritten Tag nach dem Trauma zu beobachten (21,45 (17,85-28,30) mg/dl bei den Schwerbrandverletzten und 17,20 (11,10-22,40) mg/dl bei den Polytraumapatienten). Bei den Polytraumapatienten fielen im Verlauf die Werte dann aber bis zum Tag 10 (7,30 (5,20-14,68) mg/dl) kontinuierlich ab (Abbildung 12). Im Gegensatz dazu blieb die mittlere CRP-Konzentration bei den Verbrennungspatienten auf ähnlich

ERGEBNISSE

hohem Niveau (Abbildung 11). So zeigten sich auch die Werte an den Tagen 3 bis 10 im Vergleich zum Tag 0 in beiden Gruppen statistisch signifikant bzw. hoch signifikant erhöht.

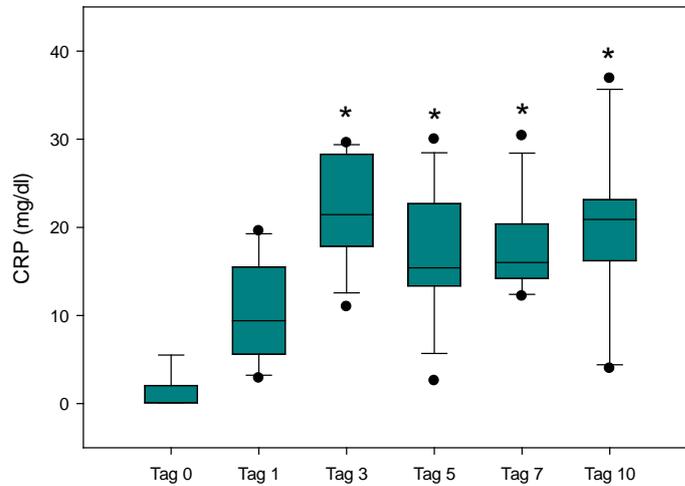


Abbildung 11 Verlauf der Konzentrationen des C-reaktiven Proteins bei Schwerbrandverletzten; * $p < 0,001$ vs. Tag 0

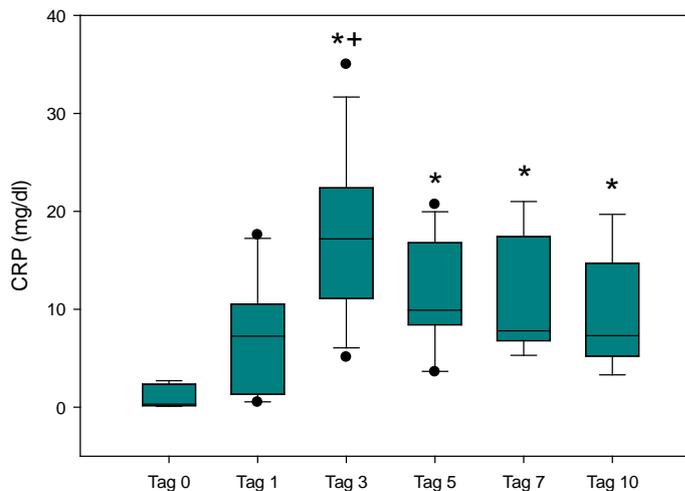


Abbildung 12 posttraumatischer Verlauf der CRP-Werte bei Polytraumapatienten; + $p < 0,001$ vs. Tag 0, * $p < 0,05$ vs. Tag 0

3.6. LEUKOZYTEN

Die Konzentrationen der weißen Blutkörperchen waren in beiden Beobachtungsgruppen unterschiedlich. So war bei den Schwerbrandverletzten am Unfalltag eine Leukozytose mit 16,90 (12,80-20,30) G/l gefolgt von einem starken Abfall hin zum Tag 3 (6,10 (3,90-7,95) G/l) zu beobachten (Abbildung 13). Im weiteren Verlauf stiegen die Leukozytenkonzentrationen

ERGEBNISSE

wieder auf ähnliche Werte wie am Unfalltag (Tag 7 mit dem höchsten Wert mit 17,00 (11,70-19,10) G/l). Es zeigte sich ein statistisch signifikanter Abfall der Werte von den Tagen 3 und 5 gegenüber Tag 0.

In der Gruppe der Polytraumapatienten waren am Unfalltag grenzwertig erhöhte Leukozytenwerte zu verzeichnen (12,90 (6,60-17,10) G/l), die aber in den folgenden Tagen wieder in den Normbereich sanken (Abbildung 14). Erst am Tag 10 nach Trauma waren hier die höchsten Werte des Beobachtungszeitraumes mit 14,40 (11,25-16,85) G/l zu registrieren. Es ergab sich keine statistische Signifikanz im Vergleich zu Tag 0 ($p=0,064$ für Tag 0 vs. Tag 1).

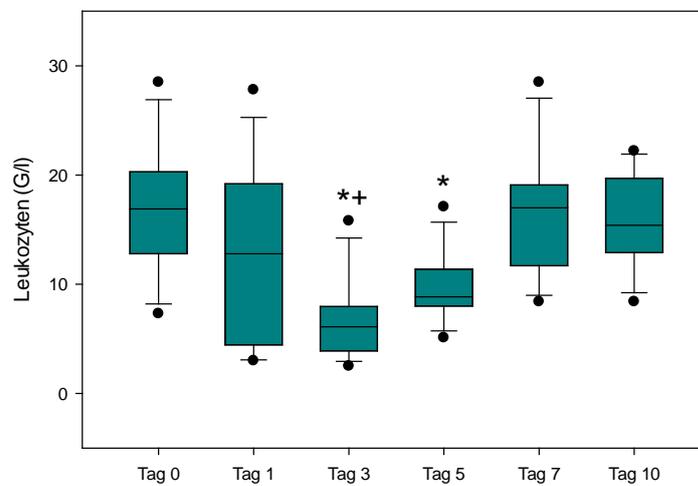


Abbildung 13 Konzentration an weißen Blutkörperchen bei Schwerbrandverletzten im posttraumatischen Verlauf; + $p<0,001$ vs. Tag 0, * $p<0,05$ vs. Tag 0

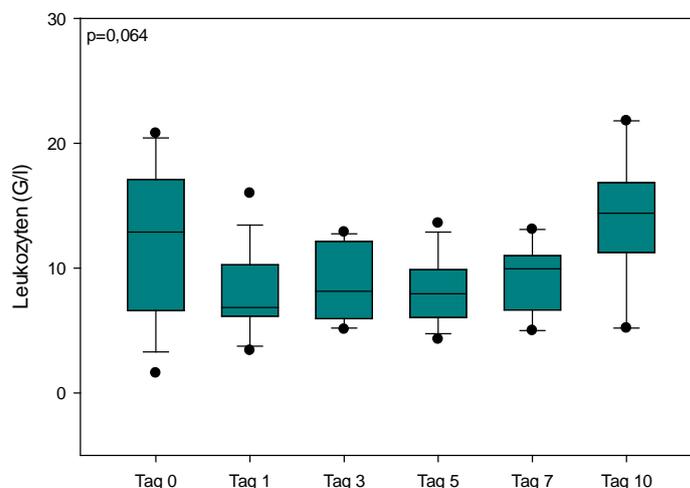


Abbildung 14 Kinetik der Leukozyten bei Patienten nach Polytrauma (ohne statistische Signifikanz)

3.7. LAKTAT

In der Gruppe der Schwerbrandverletzten zeigten sich die höchsten Laktatwerte am Tag des Unfalls mit 6,45 (4,90-9,44) mmol/l. Diese fielen im weiteren Verlauf kontinuierlich ab und blieben ab dem Tag 3 im Bereich um 2 mmol/l (Abbildung 15). Im Vergleich mit Tag 0 sind die Werte der Tage 5 bis 10 statistisch signifikant erniedrigt.

Bei den Polytraumapatienten waren die höchsten Konzentrationen des Laktats mit 2,51 (1,90-5,57) mmol/l ebenfalls am Unfalltag zu beobachten. Diese waren jedoch deutlich niedriger im Vergleich zu denen der Schwerbrandverletzten. Im weiteren Beobachtungszeitraum blieben auch in der Gruppe der Polytraumapatienten die Laktatkonzentrationen in einem grenzwertig normalen Bereich um 2 mmol/l konstant. Im Vergleich zu den gemessenen Laktatwerten vom Aufnahmetag konnte man einen statistisch signifikanten Abfall lediglich am Tag 5 feststellen (Abbildung 16).

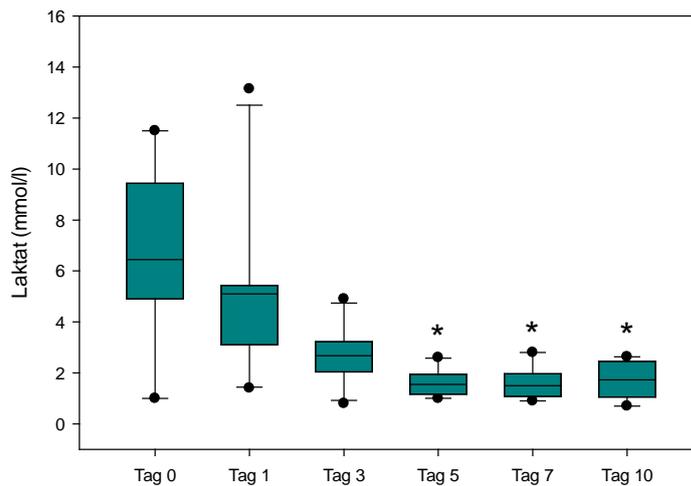


Abbildung 15 Verlauf der Laktatwerte bei Schwerbrandverletzten; * $p < 0,05$ vs. Tag 0

ERGEBNISSE

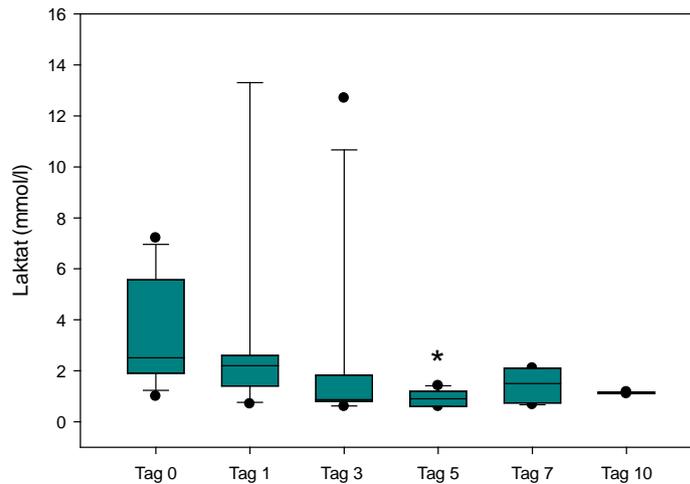


Abbildung 16 Konzentrationen des Laktats bei Polytraumapatienten; * $p < 0,05$ vs. Tag 0

3.8. HMGB-1

In beiden Patientengruppen waren die höchsten HMGB-1 Werte am Unfalltag zu beobachten mit 13,93 (7,88-21,79) ng/ml bei den Schwerbrandverletzten (Abbildung 17) und 20,55 (4,59-24,97) ng/ml bei Polytraumapatienten (Abbildung 18). Am ersten posttraumatischen Tag gab es sehr unterschiedliche HMGB-1 Konzentrationen, jedoch durchschnittlich niedrigere als am Tag 0 (6,01 (3,40-12,13) ng/ml für Schwerbrandverletzte und 2,02 (1,43-2,53) ng/ml bei Polytraumapatienten). Von Tag 3 an bis Tag 10 waren konstant niedrige Werte in beiden Gruppen zu verzeichnen. So war auch ein statistisch signifikanter Unterschied der HMGB-1 Konzentrationen in der Gruppe der Schwerbrandverletzten von Tag 0 gegenüber Tag 3 bis 10 zu erkennen. Eine ähnliche Beobachtung ließ sich auch bei den Patienten nach Polytrauma machen, bei denen eine statistische Signifikanz zwischen den Werten von Tag 0 und Tag 3, 5 und 7 vorlag.

ERGEBNISSE

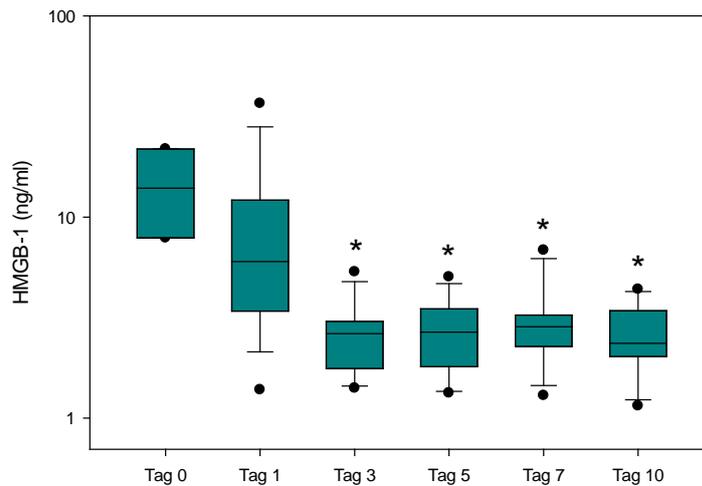


Abbildung 17 Verlauf der high-mobility-group-box-1 (HMGB-1) Werte nach schwerer Verbrennungsverletzung; * $p < 0,05$ vs. Tag 0

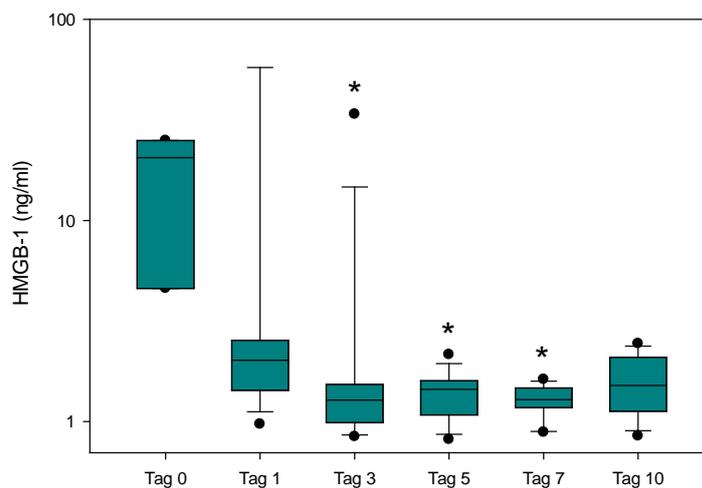


Abbildung 18 Kinetik der HMGB-1 Konzentrationen bei Polytraumapatienten; * $p < 0,05$ vs. Tag 0

3.9. CATHEPSIN X

Die Cathepsin X Konzentrationen erreichten in der Gruppe der Schwerbrandverletzten höhere Werte als bei den Polytraumapatienten mit einem leichten Anstieg bis zu Tag 10 mit 126,00 (86,00-135,00) ng/ml (Abbildung 19). Im Gegensatz dazu zeigte sich bei den Polytraumapatienten ein Maximum an Tag 1 und 3 mit je 84,0 ng/ml (72,00-99,00 ng/ml für Tag 1 und 73,00-127,00 ng/ml für Tag 3) und einem Abfall an den weiteren Beobachtungstagen auf die Ausgangswerte (Abbildung 20). In beiden Patientenkollektiven

ERGEBNISSE

ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede der einzelnen Beobachtungstage gegenüber Tag 0.

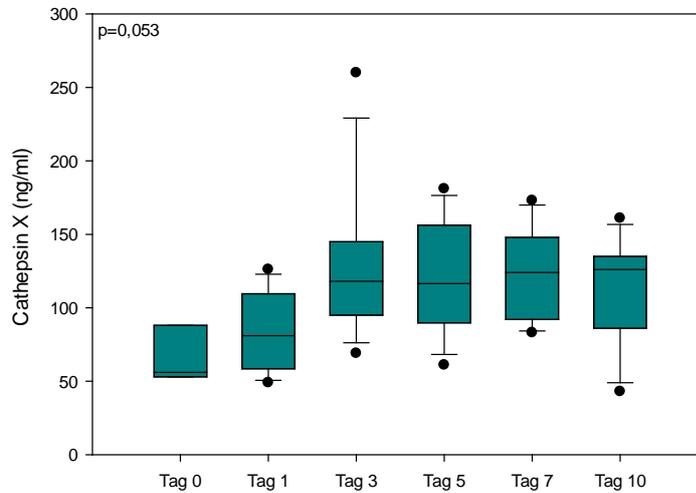


Abbildung 19 Kinetik der Cathepsin X Werte bei Schwerbrandverletzten (ohne statistische Signifikanz)

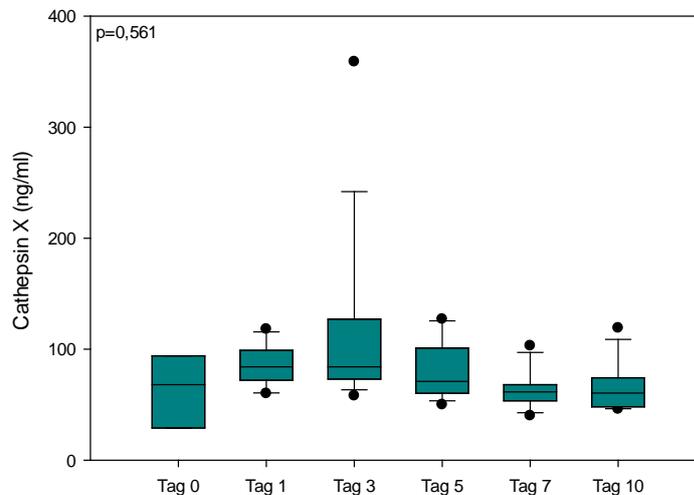


Abbildung 20 posttraumatischer Verlauf der Cathepsin X Konzentrationen bei Polytraumapatienten (ohne statistische Signifikanz)

3.10. PMN-ELASTASE

Am Unfalltag bzw. am ersten Tag nach Verbrennungsverletzung oder Polytrauma waren jeweils sehr ähnliche und die höchsten Werte der PMN-Elastase über den Beobachtungszeitraum zu beobachten, wobei die Werte der Schwerbrandverletzten durchgehend höher waren, als die der Polytraumapatienten. Über den weiteren Verlauf fielen

ERGEBNISSE

in beiden Patientenkollektiven die Werte wieder ab. Bei den Schwerbrandverletzten (Abbildung 21) sanken die Werte von 157,80 (134,60-169,80) ng/ml (Tag 0) auf 51,10 (42,60-61,80) ng/ml am Tag 10 und in der Gruppe der Polytraumapatienten von 101,80 (82,40-117,60) ng/ml (Tag 1) auf 40,45 (28,98-52,73) ng/ml (Abbildung 22). Es ergab sich ein signifikanter Unterschied der Werte der Tage 7 und 10 bei den Schwerbrandverletzten und der Werte des Tages 10 bei den Polytraumapatienten verglichen mit Tag 0.

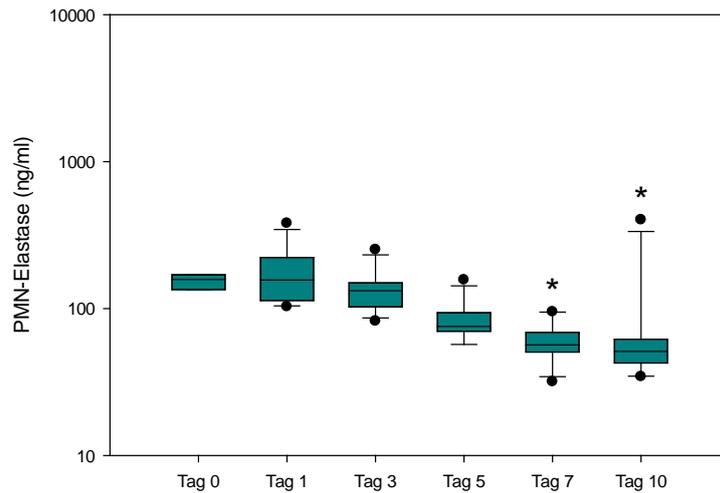


Abbildung 21 Kinetik der PMN-Elastase bei Schwerbrandverletzten; * $p < 0,05$ vs. Tag 0

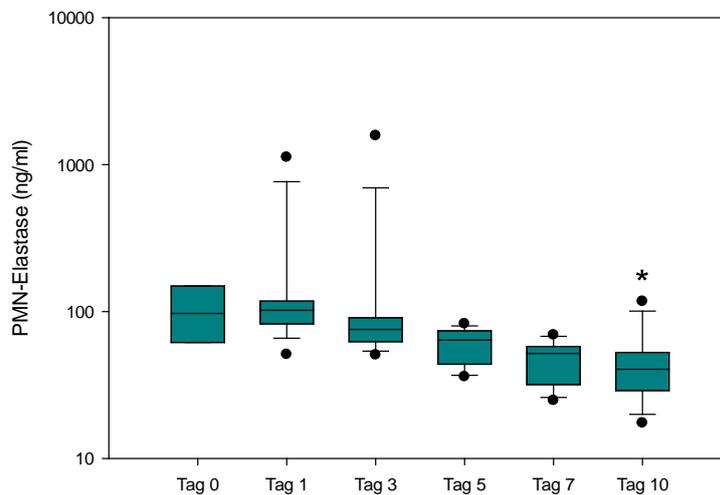


Abbildung 22 PMN-Elastasekonzentrationen im Verlauf bei Polytraumapatienten; * $p < 0,05$ vs. Tag 0

ERGEBNISSE

3.11. NEOPTERIN/KREATININ QUOTIENT

In beiden Patientenkollektiven zeigte sich über den Beobachtungszeitraum ein kontinuierlicher Anstieg des Neopterin/Kreatinin Quotienten. Am Tag 10 waren die höchsten Werte mit 705,52 (424,42-779,68) $\mu\text{mol/mol}$ bei den Schwerbrandverletzten und mit 340,56 (256,80-401,35) $\mu\text{mol/mol}$ bei den Polytraumapatienten zu verzeichnen, wobei in diesem Patientenkollektiv nur wenige Daten vorliegen, da zu Beginn der Studie noch kein Urin abgenommen wurde (Abbildung 24). Am Tag 0 und 1 waren die Werte für beide Gruppen auf ähnlichem Niveau (bei den Schwerbrandverletzten 179,96 (171,21-266,30) $\mu\text{mol/mol}$ und 202,40 (174,60-337,40) $\mu\text{mol/mol}$ bzw. 176,22 $\mu\text{mol/mol}$ und 181,81 (142,61-284,31) $\mu\text{mol/mol}$ bei denjenigen nach Polytrauma). In der Gruppe der Schwerbrandverletzten zeigten die Werte des Tages 10 eine statistische Signifikanz gegenüber denen vom Tag 0 (Abbildung 23). Bei den Polytraumapatienten zeigt sich ein vergleichbarer Trend, jedoch ohne statistische Signifikanz (Abbildung 24).

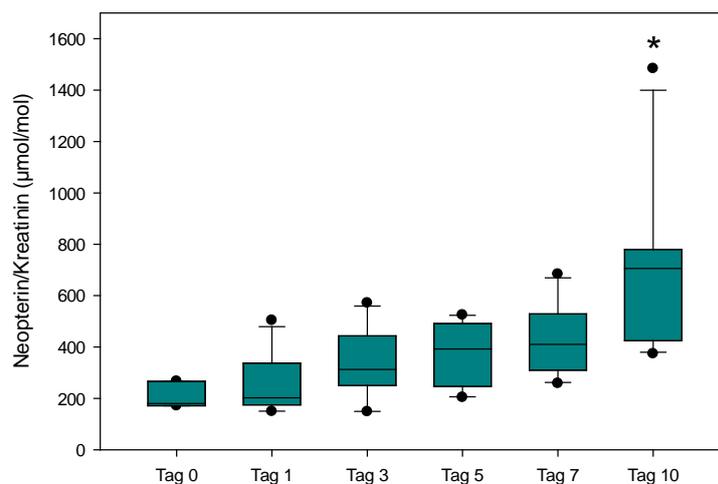


Abbildung 23 Quotient der Neopterin- und Kreatininwerte über den Beobachtungszeitraum bei den Schwerbrandverletzten; * $p < 0,05$ vs. Tag 0

ERGEBNISSE

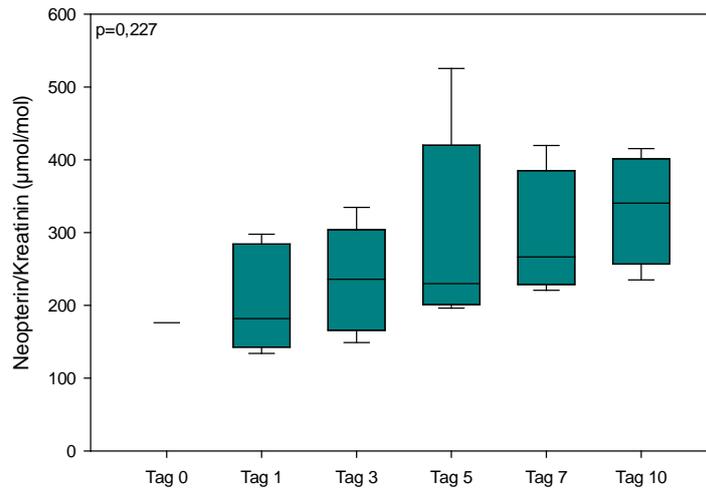


Abbildung 24 Verlauf des Neopterin/Kreatinin Quotienten bei der Gruppe der Polytraumapatienten (ohne statistische Signifikanz)

3.12. HLA-DR

Die Messung der mittleren Fluoreszenzintensität des HLA-DRs zeigte in beiden Gruppen ähnliche Verläufe. Die größte Expressionsstärke auf den CD14 positiven Zellen wurde bei Patienten sowohl nach Verbrennung (7,16 (5,56-11,17) MFI) als auch nach Polytrauma (12,40 (6,04-13,19) MFI) am Unfalltag beobachtet. Im weiteren Verlauf fiel die Expression stark ab. Bei den Schwerbrandverletzten waren die Werte am Tag 5 mit 3,38 (2,96-4,08) MFI am niedrigsten mit statistisch signifikantem Unterschied zu Tag 0 (ebenso für die Werte von Tag 7). Sie stiegen zum Tag 10 nochmal leicht auf 3,91 (3,15-4,84) MFI an (Abbildung 25). Bei den Polytraumapatienten, wobei aufgrund anfänglicher technischer Probleme mit der Messung nur für eine geringe Patientenzahlen Werte vorliegen, war die HLA-DR Expression am Tag 3 mit 3,50 (3,01-5,42) MFI am geringsten ausgeprägt; für die Werte der Tage 1 bis 10 bestand ein signifikanten Unterschied zu den Werten vom Tag des Unfalls (Abbildung 26).

ERGEBNISSE

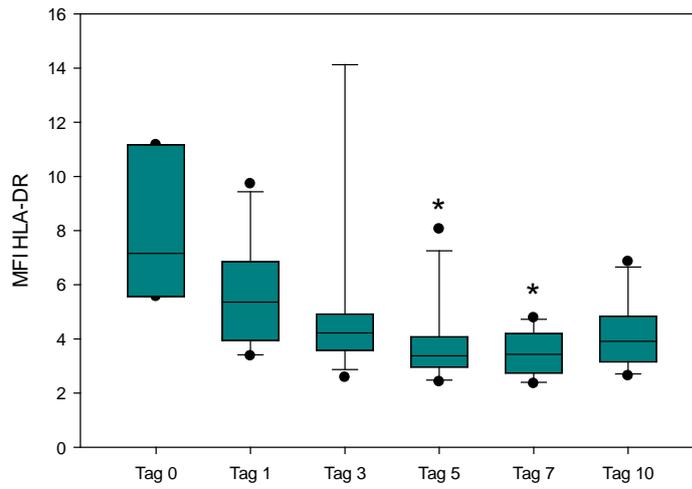


Abbildung 25 HLA-DR Expressionsstärke bei Schwerbrandverletzten; *p<0,05 gegenüber Tag 0

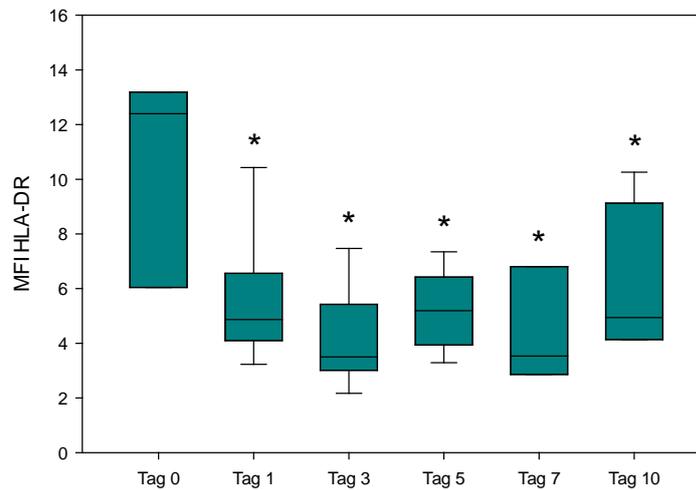


Abbildung 26 Verlauf der Expression des HLA-DR auf CD14 positiven Zellen bei Polytraumapatienten; * p<0,05 vs. Tag 0

3.13. KORRELATION ZWISCHEN DER ENDOTOXINAKTIVITÄT UND DEN WEITEREN UNTERSUCHTEN PARAMETERN

Im Folgenden sollen unabhängig vom Verletzungsmuster verschiedene Parameter mit der Endotoxinaktivität in Korrelation gesetzt werden um hier etwaige Auswirkungen einer Endotoxinämie auf die Entzündungsreaktion zu detektieren.

3.13.1. ÜBERSICHT

Die hier dargestellte Tabelle (Tabelle 16) soll einen Überblick über die Korrelationen (Korrelationskoeffizient, n und p) der verschiedenen in der Studie bestimmten Parameter und der Endotoxinaktivität geben. Alle Parameter, bis auf HLA-DR, zeigen an zumindest einem Beobachtungstag eine statistisch signifikante Beziehung mit der Endotoxinaktivität; die meisten Übereinstimmungen (3 Beobachtungstage) lassen sich bei Cathepsin X messen. Betrachtet man die einzelnen Tage, gibt es an Tag 3 mit fünf von neun Parametern die meisten Wechselbeziehungen (Endotoxinaktivität und Leukozyten, Laktat, HMGB-1, Cathepsin X sowie PMN-Elastase), gefolgt von Tag 7 und 10 mit je drei von neun möglichen Korrelationen. Betrachtet man alle Werte über den gesamten Beobachtungszeitraum korrelieren fünf von neun Parametern mit statistischer Signifikanz; diese sind LBP, CRP, Cathepsin X, Neopterin/Kreatinin Quotient und HLA-DR.

ERGEBNISSE

Tabelle 16 Übersicht über die Korrelationen der Endotoxinaktivität mit den weiteren untersuchten Parametern (angegeben ist der Korrelationskoeffizient, der Signifikanzwert p, sowie die Probengröße n)

	Tag 0	Tag 1	Tag 3	Tag 5	Tag 7	Tag 10	gesamt
LBP							
Korrelationskoeffizient	-0,257	0,262	0,092	0,182	0,532	0,401	0,395
p	0,658	0,176	0,638	0,371	0,0111	0,0571	0,00000297
n	6	28	28	26	22	23	133
Leukozyten							
Korrelationskoeffizient	-0,829	-0,199	-0,615	-0,0254	0,288	0,238	-0,0924
p	0,0583	0,316	0,000669	0,899	0,241	0,305	0,307
n	6	27	27	26	18	20	124
CRP							
Korrelationskoeffizient	0,783	0,26	-0,0456	0,292	0,484	0,49	0,48
p	0,133	0,188	0,827	0,173	0,041	0,0382	0,0000000654
n	5	27	25	23	18	18	116
Laktat							
Korrelationskoeffizient	-0,6	-0,218	0,535	0,357	0,172	0	-0,125
p	0,35	0,28	0,0125	0,157	0,565	1	0,233
n	5	26	21	17	13	10	92
HMGB-1							
Korrelationskoeffizient	-0,257	-0,315	0,377	0,457	0,411	0,403	0,0374
p	0,658	0,101	0,0477	0,0191	0,057	0,0558	0,669
n	6	28	28	26	22	23	133
Cathepsin X							
Korrelationskoeffizient	0,257	0,274	0,381	0,225	0,446	0,448	0,433
p	0,658	0,156	0,0453	0,265	0,0369	0,0317	0,000000242
n	6	28	28	26	22	23	133
PMN-Elastase							
Korrelationskoeffizient	-0,543	0,0279	0,547	0,322	-0,0421	0,046	-0,0627
p	0,297	0,886	0,00271	0,107	0,848	0,83	0,473
n	6	28	28	26	22	23	133
Neopterin/Kreatinin Quotient							
Korrelationskoeffizient	-0,6	0,0176	0,136	0,302	0,127	0,584	0,4
p	0,417	0,941	0,592	0,263	0,683	0,0211	0,000239
n	6	18	17	15	12	15	81
HLA-DR							
Korrelationskoeffizient	0,0286	-0,382	-0,00351	-0,431	-0,365	-0,29	-0,476
p	1	0,104	0,986	0,0815	0,214	0,287	0,00000295
n	6	19	19	17	13	15	89

ERGEBNISSE

3.13.2. *LBP*

Über den Gesamtzeitraum betrachtet (Abbildung 27) zeigt sich eine deutliche Korrelation ($p=0,00000297$) zwischen der Endotoxinaktivität und der LBP Konzentration mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,395, so dass bei hoher Endotoxinaktivität auch höhere LBP Spiegel zu messen sind. An den einzelnen Beobachtungstagen korrelieren diese beiden Parameter nur an Tag 7 mit statistischer Signifikanz (Tabelle 16).

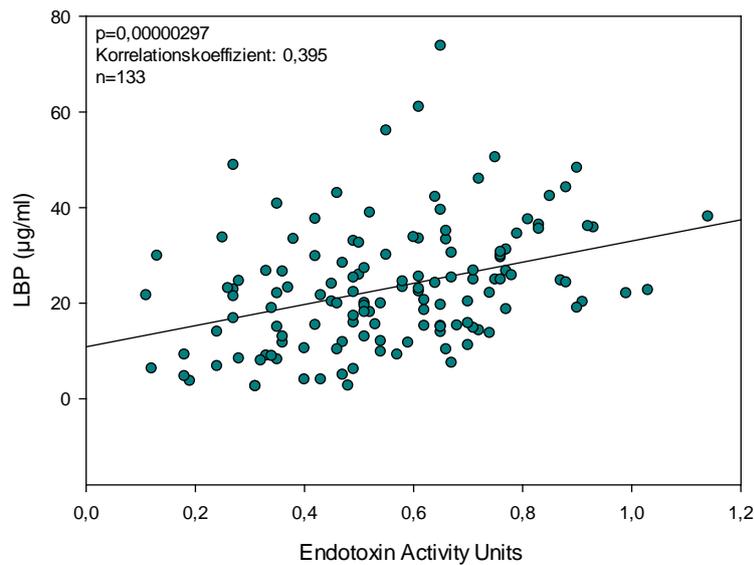


Abbildung 27 Korrelation zwischen Endotoxinaktivität und LBP im gesamten Beobachtungszeitraum

3.13.3. *CRP*

Es zeigt sich über den gesamten Beobachtungszeitraum eine hochsignifikante Korrelation ($p=0,0000000654$, Korrelationskoeffizient 0,480) zwischen der Endotoxinaktivität und den CRP Werten mit höheren CRP Werten bei höherer EAUs (Abbildung 28). Dieselbe Beobachtung lässt sich, betrachtet man die einzelnen Beobachtungstage, für die Tage 7 und 10 machen (Tabelle 16).

ERGEBNISSE

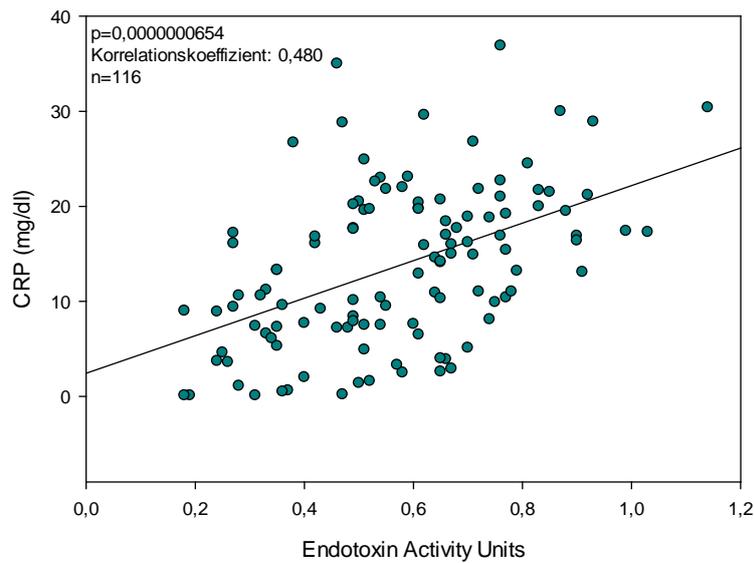


Abbildung 28 Korrelation zwischen CRP und der Endotoxinaktivität im Beobachtungszeitraum

3.13.4. LEUKOZYTEN

Bei den Leukozyten lässt sich nur an einem Beobachtungstag (Tag 3) eine Korrelation ($p=0,000669$, Korrelationskoeffizient $-0,615$) zu der Endotoxinaktivität feststellen mit niedrigeren Leukozytenzahlen bei höherer Endotoxinaktivität (Tabelle 16). An den übrigen Beobachtungstagen, wie auch über den gesamten Zeitraum zeigt sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang (Tabelle 16, Abbildung 29).

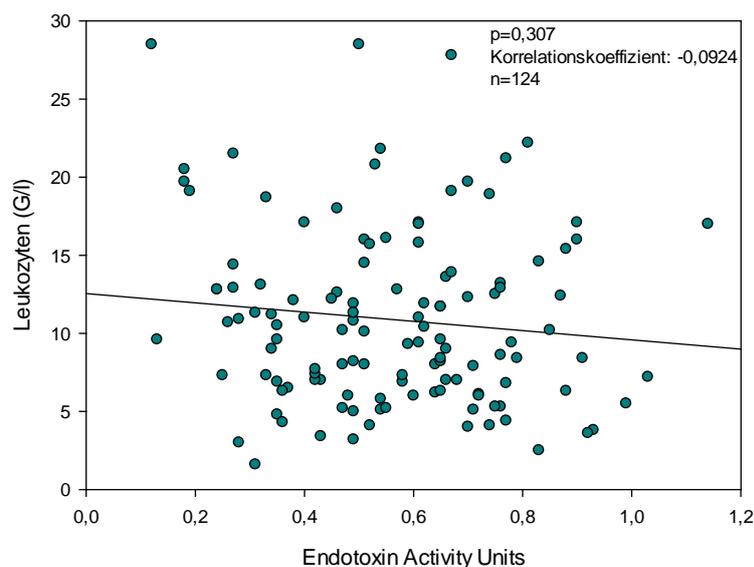


Abbildung 29 Korrelation zwischen Endotoxinaktivität und Leukozyten im gesamten Beobachtungszeitraum

ERGEBNISSE

3.13.5. LAKTAT

Betrachtet man das Laktat und seine Wechselbeziehung zu der Endotoxinaktivität ergibt sich für Tag 3 eine signifikante Übereinstimmung ($p=0,0125$, Korrelationskoeffizient $0,535$); die übrigen Beobachtungstage, sowie die gepoolten Daten über den Beobachtungszeitraum zeigen keine statistische Signifikanz (Abbildung 30, Tabelle 16).

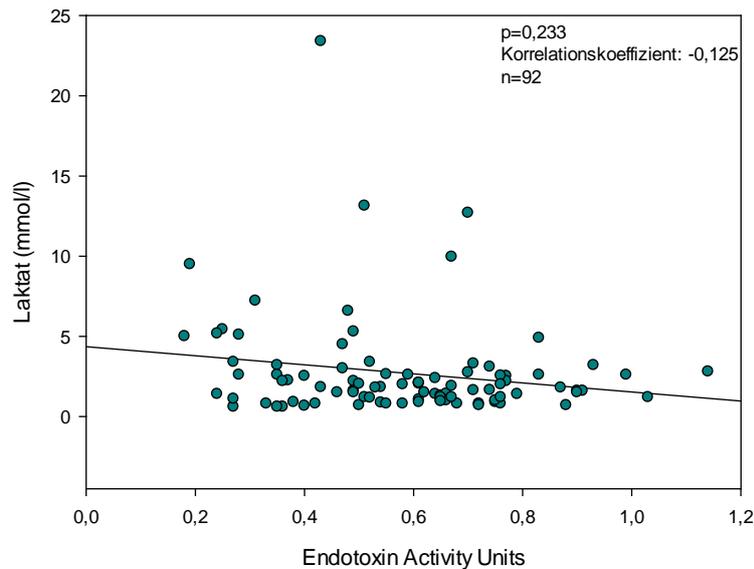


Abbildung 30 Korrelationen zwischen Endotoxinaktivität und Laktatkonzentration für die Tage 0 bis 10

3.13.6. HMGB-1

Über den gesamten Beobachtungszeitraum zeigt sich für HMGB-1 und die Endotoxinaktivität keine Korrelation (Abbildung 31); werden nur die einzelnen Beobachtungstage betrachtet ergibt sich eine positive Korrelation für die Tage 3 und 5 (Tabelle 16).

ERGEBNISSE

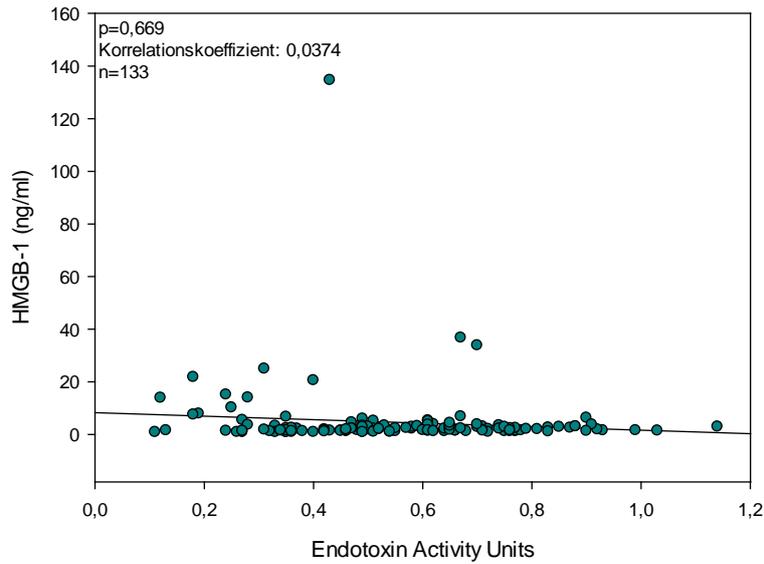


Abbildung 31 Korrelation zwischen HMGB-1 und Endotoxinaktivität im Beobachtungszeitraum

3.13.7. *CATHEPSIN X*

Die meisten Korrelationen der untersuchten Parameter (einzelne Beobachtungstage und gesamter Verlauf) bestehen zwischen der Endotoxinaktivität und Cathepsin X. Hier konnten für die Tage 3, 7 und 10, sowie den gesamten Beobachtungszeitraum positive Korrelationen gemessen werden (Tabelle 16, Abbildung 32).

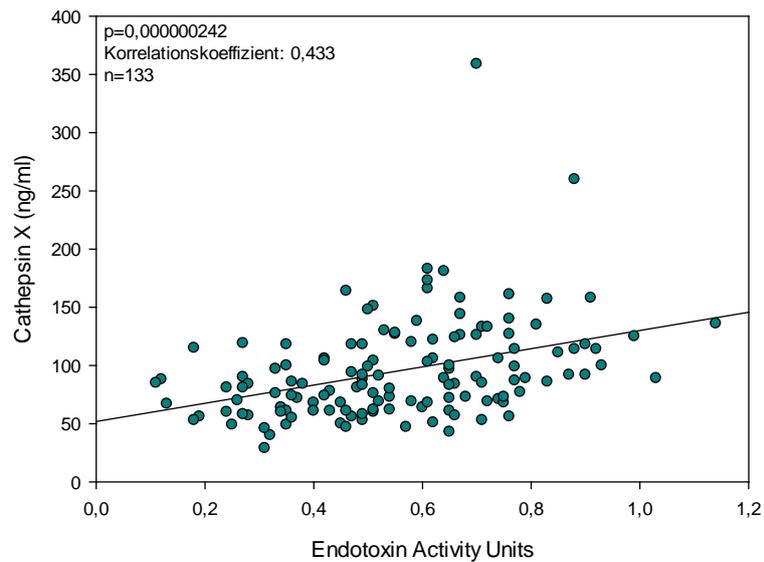


Abbildung 32 Korrelation zwischen Endotoxinaktivität und Cathepsin X über den gesamten Beobachtungszeitraum

ERGEBNISSE

3.13.8. *PMN-ELASTASE*

Bei der PMN-Elastase zeigt sich für nur einen Beobachtungstag (Tag 3) eine Korrelation mit der Endotoxinaktivität (Tabelle 16); an den übrigen Tagen sowie über den gesamten Zeitraum besteht keine signifikante Korrelation (Abbildung 33).

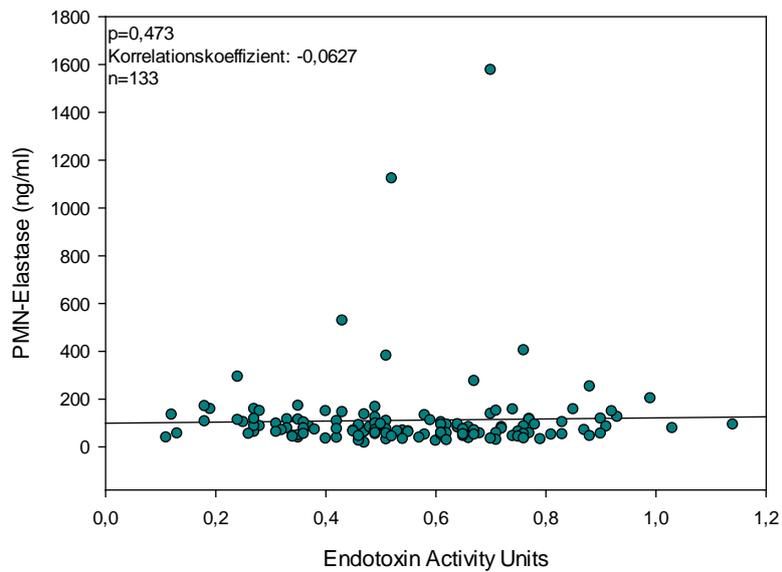


Abbildung 33 Korrelation zwischen Endotoxinaktivität und PMN-Elastase (gesamter Beobachtungszeitraum)

3.13.9. *NEOPTERIN/KREATININ QUOTIENT*

Es zeigt sich für Tag 10, sowie den gesamten Beobachtungszeitraum eine statistisch signifikante Korrelation zwischen der Endotoxinaktivität und dem Neopterin/Kreatinin Quotienten (Tabelle 16, Abbildung 34).

ERGEBNISSE

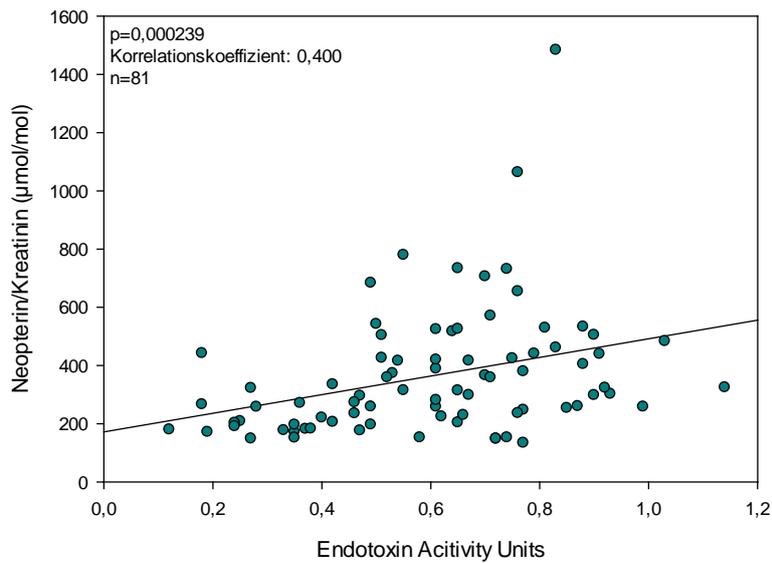


Abbildung 34 Korrelation zwischen Endotoxinaktivität und Neopterin/Kreatinin Quotient im gesamten Beobachtungszeitraum

3.13.10. HLA-DR

Für die Endotoxinaktivität und die HLA-DR Expression besteht über den gesamten Zeitraum eine hochsignifikante negative Korrelation ($p=0,00000295$, Korrelationskoeffizient $-0,476$) (Abbildung 35). Für die einzelnen Beobachtungstage lässt sich dies statistisch nicht belegen (Tabelle 16)

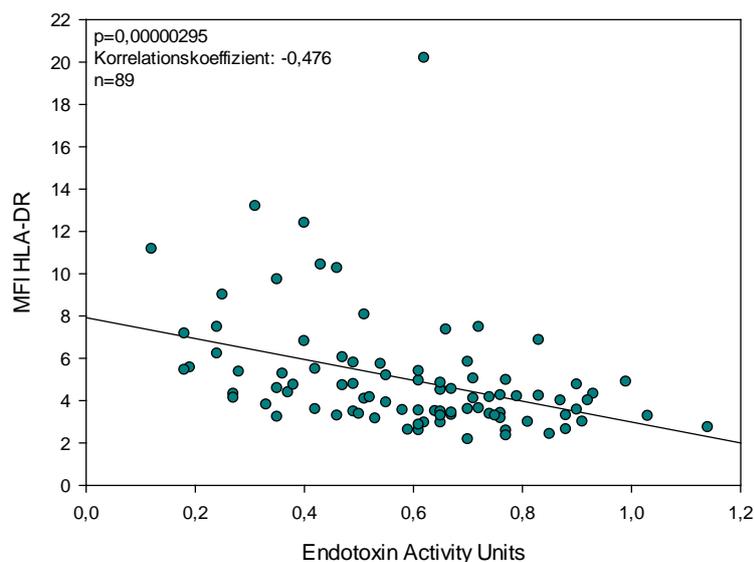


Abbildung 35 Korrelation zwischen Endotoxinaktivität und HLA-DR Expression im gesamten Beobachtungszeitraum

4. DISKUSSION

4.1. SCORES, SIRS, SEPSIS UND MOV

Sepsis und Organversagen haben trotz moderner Therapiekonzepte weiterhin einen großen Anteil an Morbidität und Mortalität auf Intensivstationen. In verschiedenen Verbrennungszentren schwanken die Angaben über MOV als Todesursache zwischen 40% und 64,9% [133, 134]. Bei einem Großteil der Patienten konnte zudem eine Sepsis beobachtet werden. Bei Patienten nach Polytrauma verstarben 37,5% an einem posttraumatischen MOV [135].

Die Mittels ABSI und RISC-Score errechnete Überlebenswahrscheinlichkeit spiegelte die Realität besonders in der Gruppe der Schwerbrandverletzten sehr gut wieder (61% Überlebende vs. 60% errechnete Überlebende). Bei den Patienten nach Polytrauma lag die reale Zahl der Überlebenden bei 87% und somit unter der errechneten Überlebenswahrscheinlichkeit von 96%. (Tabelle 8).

Diese Studie befasst sich mit der posttraumatischen Immunreaktion bei Patienten nach schwerer Verbrennungsverletzung oder Polytrauma. Die laborchemisch messbaren Marker der Entzündungsreaktion könnten hilfreich sein, Sepsis und Multiorganversagen bereits während des frühen klinischen Verlaufs detektieren zu können. Für die zunächst rein deskriptiven Messungen geeigneter Parameter konnten 13 Patienten nach Verbrennungstrauma und 15 polytraumatisierte Patienten eingeschlossen werden. In den ersten zehn Tagen nach Trauma wurde gemäß dem Studienprotokoll an den Tagen 0, 1, 3, 5, 7 und 10 Blut- und Urinabnahmen durchgeführt sowie die klinischen Parameter zur Erfassung eines MOV und SIRS/Sepsis erhoben.

Die erste Frage, die sich bei der Betrachtung der Ergebnisse stellt ist, ob die eingeschlossenen Patienten eine repräsentative Stichprobe von Patienten mit einem ausreichend hohen Risiko für Sepsis und MOV darstellen.

Bei den Schwerbrandverletzten zeigte sich mit 92% (Tabelle 8) ein deutlich höherer MOV-Anteil als in der Literatur beschrieben (45,3% - 60,3%) [136]. Bei Polytraumapatienten wird in der Literatur eine MOV-Inzidenz von 7,9 %-26,1 % [137-139] beschrieben. In dieser Studie entwickelten 47% der Polytrauma-Patienten ein MOV (Tabelle 8). Das ist wie schon bei den Schwerbrandverletzten ebenfalls ein höherer Anteil als in der Literatur angegeben. Eine Erklärung hierfür kann aktuell nicht gegeben werden, da die Verletzungsschwere, insofern sie angegeben ist, in den zitierten Studien vergleichbar zu dem hier eingeschlossenen Patientenkollektiv ist. Die Diagnosestellung der Sepsis ist immer schon schwierig, weil die

DISKUSSION

bisher dafür herangezogenen Kriterien, einer systemischen Entzündungsreaktion in Gegenwart einer Infektion als wenig spezifisch angesehen werden müssen. Diese diagnostische Unsicherheit ist letztlich die Rationale, auf der alle Überlegungen zum Monitoring der posttraumatischen Inflammation ruhen, nämlich die Infektion respektive die eine Infektion verkomplizierende Sepsis von einer physiologischen Reaktion auf ein schweres Gewebetrauma zu differenzieren. So wurde z.B. gezeigt, dass eine Verstärkung der systemischen Reaktion bei einer langandauernden Operation (>2,5 Stunden) mit erhöhten Komplikationen und somit erhöhter Mortalität einhergeht [140].

In der vorliegenden Studie fanden sich Sepsisraten von 100% für Patienten mit schwerem Verbrennungstrauma und 47% für Polytraumapatienten (Tabelle 8). Dabei ist streitbar, ob die Diagnose auf der Basis der angelegten Definition gemäß der Konsensuskonferenz von 2001 [22] mit hoher Sicherheit angenommen werden kann. Die sog. SIRS-Kriterien sind bei praktisch allen Patienten mit ausgedehntem Gewebetrauma positiv. So wunderte es nicht, dass sowohl die Schwerbrandverletzten als auch die Polytraumapatienten in dieser Studie zu 100% ein SIRS aufwiesen und zwar unabhängig davon ob eine Infektion vorlag oder nicht (Tabelle 8). Damit eignen sich die SIRS-Kriterien im Grunde genommen nicht zur Diagnosesicherung einer Sepsis. Für Schwerbrandverletzte wurden aus diesem Grund, bereits 2007 von der American Burn Association alternative diagnostische Kriterien veröffentlicht [141]: Tachykardie, Tachypnoe, abnorme Körpertemperatur, Hyperglykämie, Thrombozytopenie und Schwierigkeiten bei der Ernährung. Wenn mehr als drei dieser Kriterien erfüllt sind, so kann demnach von einer Sepsis ausgegangen werden. In einer 2012 von Hogan et al. veröffentlichten Studie zeigte sich nur für die Kriterien Hypo- oder Hyperthermie und Tachykardie ein statistisch signifikanter Zusammenhang mit einer nachgewiesenen Bakteriämie [142]. Dieser Kriterienkatalog wurde in dieser Studie allerdings nicht eingesetzt, weil die Arbeit erst nach Studienbeginn veröffentlicht wurde und damit der prospektive Datenerhebung noch nicht zur Verfügung stand.

Die Sepsisrate bei den Schwerbrandverletzten lag ebenfalls bei 100% (Tabelle 8). Dabei gelang in 84,6% der mikrobiologische Nachweis von gram-negativen Keimen und eine antibiotische Therapie erhielten 92,3% der Fälle (Tabelle 8). Die Sepsisraten, anhand der 2007 von der American Burn Association veröffentlichten Kriterien, variieren in der Literatur stark zwischen 10% und 90% [143, 144]. Das hier insgesamt geringere Prozentangaben vorliegen kann durch die neue Definition einer Sepsis (s.o.) bedingt sein.

Auch nach Polytrauma entwickelten 100% der Patienten ein SIRS (Tabelle 8); ein mikrobiologischer Nachweis gram-negativer Bakterien ließ sich jedoch nur in 26,7% führen und eine antibiotische Therapie erhielten 86,7% (Tabelle 8). Insgesamt wurde eine Sepsis für 47% der Fälle diagnostiziert (Tabelle 8). Dies bestätigt sich in zwei weiteren Studien bei

DISKUSSION

Polytraumapatienten mit vergleichbarer Verletzungsschwere (mittlerer ISS 27 bzw. 28), bei denen eine Sepsisrate von 33% bzw. 65% zu messen war [145, 146].

Inzwischen liegt mit SEPSIS-3 ein neuer Konsensus vor, der erst kürzlich im JAMA publiziert wurde und der in dieser Studie nicht mehr eingegangen ist [147]. In dieser neuen Definition hat man sich von dem bisher angenommenen Kontinuum aus SIRS, Sepsis, schwerer Sepsis und septischem Schock gelöst. Von nun an ist die Sepsis definiert als ein lebensbedrohliches Organversagen auf der Basis einer Infektion. Die SIRS-Kriterien selbst spielen hier nur noch als allgemeiner Hinweis auf eine Infektion eine Rolle. Die Kriterien des Organversagens sind eine beschleunigte Atemfrequenz, jede Form der Bewusstseinstrübung und ein Kreislaufchock mit einem systolischen Blutdruck von weniger als 90 mmHg. Ob diese neue Definition überhaupt geeignet ist, um die sterile, einer Infektion klinisch ähnlichen Reaktion, die durch ein Trauma hervorgerufen wird, von einer schweren Infektion mit konsekutiver Organdysfunktion zu differenzieren muss anderweitig geklärt werden.

Zusammenfassend kann aber festgestellt werden, dass die hier untersuchten Patienten ein ausreichend schweres Trauma erlitten haben um ein relevantes Risiko für MOV und Sepsis und eine entsprechende, systemweite Entzündungsreaktion im weiteren Verlauf vorweisen zu können.

Unterschiede in den Raten von MOV und Sepsis mögen Ausdruck unterschiedlicher Basisrisiken für MOV und Sepsis nach dem jeweiligen Verletzungsmechanismus haben. Die an Tag 1 bestimmten SAPS II Werte als Ausdruck der Störung der physiologischen Homöostase durch das Trauma war in beiden Patientenkollektiven mit 36,0 (28,0-61,5) bzw. 32,0 (23,0-34,0) annähernd vergleichbar (Tabelle 8). Für die einzelnen gemessenen Parameter zeigen sich jedoch sehr heterogene Ergebnisse mit deutlichen Unterschieden zwischen den beiden Gruppen. Man kann annehmen, dass diese Unterschiede in der inflammatorischen Antwort zustande kommen, weil die Reaktion des Körpers auf die beiden sehr unterschiedlichen Verletzungsmechanismen (mechanisches vs. thermisches Gewebetrauma) offenbar nicht völlig identisch ist. Daher müssen die Ergebnisse von Betrachtungen, in denen die Mechanismen zusammen ausgewertet wurden mit entsprechender Vorsicht interpretiert werden.

4.2. ENDOTOXIN

Endotoxin hat in dieser Studie eine zentrale Bedeutung. Als Zellwandbestandteil gram-negativer Bakterien wird es bei deren Zellerfall freigesetzt und somit gehen erhöhte Werte mit einer gram-negativen Infektion einher. Bereits in den 1980er Jahren wurden erhöhte

DISKUSSION

Endotoxinwerte in Verbrennungspatienten beschrieben, welche mit dem LAL-Test gemessen wurden [148, 149]. Ebenso konnte in der vorliegenden Studie bei allen Schwerbrandverletzten an mindestens einem Beobachtungstag mit dem neuen EAA-Test eine hohe Endotoxinaktivität festgestellt werden, so dass von einer gram-negativen Infektion auszugehen ist (Tabelle 10). Dementsprechend gelang auch bei 84,6% der Patienten der mikrobiologische Nachweis einer gram-negativen Infektion (Tabelle 8, Tabelle 10) und es bestätigte sich erwartungsgemäß eine Übereinstimmung einer hohen Endotoxinaktivität und dem Nachweis einer Sepsis nach den Kriterien von Bone (Tabelle 12).

Die höchste Endotoxinaktivität zeigte sich ab Tag 3, welche auch im weiteren Beobachtungszeitraum im hohen Wertebereich lag (mit statistisch signifikantem Unterschied zu Tag 0) (Abbildung 7, Tabelle 9, Tabelle 10). Winchurch und Ulrich beschreiben in Übereinstimmung mit diesen Ergebnissen einen Endotoxinspitzenwert an Tag 3 [148, 150]. Bei Ulrich et al. waren ab dem Tag 4 weitere gelegentliche Anstiege zu messen. Von Dobke et al. wurde 1989 ein Gipfel nach 7-12 Stunden sowie nach 4 Tagen nach Verbrennungsverletzung beschrieben [151]. Möglicherweise konnte dieser in dieser Studie nicht gemessen werden, da das Zeitintervall innerhalb der ersten 8 Stunden nach Trauma (am Tag 0) für die Detektion des Peaks zu kurz gewählt ist.

In der Gruppe der Polytraumapatienten ließen sich sehr heterogene Endotoxinaktivitäten messen, wobei 73,3% der Patienten an wenigstens einem Beobachtungstag eine hohe Endotoxinaktivität zeigten (Tabelle 8, Tabelle 9, Tabelle 11, Abbildung 8). Ab dem dritten Tag nach Trauma fand sich eine hohe Endotoxinaktivität jedoch nur noch zwischen 8,3% und 41,7% der Fälle (Tabelle 9, Tabelle 11, Abbildung 8). In den mikrobiologischen Proben konnte auch nur bei 26,7% der Patienten eine gram-negative Infektion nachgewiesen werden (Tabelle 8, Tabelle 11, Tabelle 15). Es ließ sich auch keine Übereinstimmung einer hohen Endotoxinaktivität und einer nachweisbaren Sepsis herstellen (Tabelle 14), so dass die Aussage des Herstellers, dass bei hoher Endotoxinaktivität eine Sepsis wahrscheinlich ist, in diesem Patientenkollektiv eventuell nur eingeschränkt gilt. Das könnte z.B. am Keimspektrum liegen oder aber daran, dass bei den Polytraumapatienten deutlich weniger mikrobiologische Proben abgenommen wurden, als bei den Schwerbrandverletzten, so dass hier auch eventuell kein Keimnachweis gelingen konnte. Eine andere Erklärung könnte sein, dass relevante Endotoxinmengen in den Blutkreislauf gelangen, ohne dass eine klinisch fassbare Infektion vorliegt, z.B. im Rahmen des Schocks. Hier könnte unter eingeschränkter Durchblutung des Darms eine Schrankenstörung zustande kommen, bei der das Endotoxin der physiologischen Darmflora in die Zirkulation gelangen könnte, ohne dass eine relevante gram-negative Infektion mit entsprechenden mikrobiellen Befunden durchgemacht wurde.

DISKUSSION

Tierexperimentell konnte ein Zusammenhang mit einem LPS-Anstieg im Blut einhergehend mit der Entwicklung eines MOV nach schwerem Unfalltrauma und Verbrennung gezeigt werden [152], was sich in dieser Studie in der Gruppe der Schwerbrandverletzten, die alle eine deutliche Endotoxinaktivität zeigen, angesichts einer MOV-Rate von 92% zu bestätigen scheint (Tabelle 8, Tabelle 9, Tabelle 10, Abbildung 7). In dem Kollektiv der polytraumatisierten Patienten ergab sich diesbezüglich keine eindeutige Übereinstimmung (Tabelle 8, Tabelle 9, Tabelle 11, Abbildung 8). Eine weitere Studie beschreibt einen klaren Zusammenhang zwischen erhöhten Endotoxinwerten und dem Entstehen eines MOV nach Verbrennungstrauma [153].

In der Vergangenheit konnte bereits eine Barrierestörung im Magen-Darm-Trakt nach schweren Trauma und hämorrhagischem Schock [154] und nach Verbrennungsverletzungen [155, 156] nachgewiesen werden. In der Studie von Roumen et al. zeigte sich jedoch, bei geringer Patientenzahl, kein zeitlicher Zusammenhang für eine Endotoxinämie. Als zugrunde liegende Pathogenese wird bei Herdorn et al. die Vasokonstriktion im mesenterialen Stromgebiet nach thermischen Verletzungen mit konsekutiver Mukosaschädigung und Barrierestörung genannt. Erhöhte Plasmalaktatwerte, die als Ausdruck eines Schockgeschehens gewertet werden können, fanden sich für beide Verletzungsmechanismen in der Frühphase nach Trauma und blieben dann im weiteren Verlauf im grenzwertig erhöhten Bereich um 2 mmol/l (Tabelle 9, Abbildung 15, Abbildung 16). Es zeigte sich auch lediglich an einem Tag (Tag 3 nach Trauma) eine statistisch signifikante Korrelation zwischen der Endotoxinaktivität und der Laktatkonzentration (Tabelle 16), so dass sich der bereits bei gesunden Freiwilligen beschriebene Laktatanstieg auf LPS [66] hier nicht zu bestätigen scheint.

Ein weiterer Erklärungsversuch könnte sein, dass eine antibiotische Therapie im Sinne der Jarisch-Herxheimer-Reaktion, die Endotoxinfreisetzung steigert. In einem Tierexperiment mit septischen Mäusen zeigte sich ein geringer Endotoxinanstieg nach der Gabe von Imipinem, im Vergleich zu der Gabe von Kochsalzlösung bzw. Ciprofloxacin und Clindamycin, welche ähnliche LPS-Werte aufwiesen [157]. Neben Penicillin [40] und Doxycyclin [41] sollen auch β -Lactam Antibiotika, die an das Penicillin-bindende Protein-3 binden, wie Piperacillin, Cefuroxim und Ceftazidim [42, 43] zu einer hohen Endotoxinfreisetzung führen. In dieser Studie fand ab Tag 2 bei 84,6% der Schwerbrandverletzten (Tabelle 8) eine antibiotische Therapie mit Cefuroxim bzw. Piperacillin/Combactam statt. Spätestens ab dem 6. Tag nach Verbrennung erhielten alle Schwerbrandverletzten eine antibiotische Therapie mit Cefuroxim, Piperacillin/Combactam, Imipinem, Ciprofloxacin, Erythromycin, Ceftazidim oder Linezolid. In der Gruppe der polytraumatisierten Patienten hatten - je nach Beobachtungszeitpunkt - zwischen 61,5% und 78,6% der Patienten eine antibiotische Therapie (Tabelle 8) mit den verschiedensten Substanzen (Cefuroxim, Ceftriaxon, Amoxicillin/Clavulansäure,

DISKUSSION

Piperacillin/Tazobactam, Ciprofloxacin, Clindymycin, Erythromycin, Linezolid, Cotrimoxazol, Vancomycin, Tigecyclin) erhalten, wobei hier im Durchschnitt eine Endotoxinaktivität im mittleren Wertebereich (lt. Hersteller vereinbar mit einer Endotoxinämie) gemessen wurde (Tabelle 9, Tabelle 11, Abbildung 8). Bei den hier vorliegenden Daten kann daher für beide Patientenkollektive auch eine antibiotikainduzierte Endotoxinfreisetzung diskutiert werden.

Desweiteren kann im Verlauf auch eine ventilatorassoziierte Pneumonie aufgrund der langen Beatmungsdauer bzw. eine Katheterinfektion als Auslöser der Endotoxinämie in Betracht gezogen werden. In einer Studie von Tao et al. waren bei Schwerbrandverletzten zweidrittel der an Katheterspitzen nachgewiesenen Keime dem gram-negativem Spektrum zuzuordnen [158].

Letztlich bleibt die Ursache der hohen Endotoxinaktivität in den Patientenkollektiven ungeklärt. In beiden Patientenkollektiven bedarf es weiterer Studien mit größeren Patientenkollektiven um den Einfluss einer antibiotischen Therapie oder von Perfusionsstörungen des Darmes z.B. im Rahmen von Schock oder okkultem Schock weiter zu erforschen.

4.3. LBP

LBP ist als Akut-Phase-Protein durch die Vermittlung einer Bindung von LPS über CD14 an die Monozyten an der Immunreaktion beteiligt. In dieser Studie zeigte sich für polytraumatisierte und schwerbrandverletzte Patienten ähnliche Werte am Aufnahmetag (4,00 (2,60-5,00) µg/ml bzw. 4,70 (3,70-6,30) µg/ml) (Tabelle 9, Abbildung 9, Abbildung 10). Übereinstimmend mit einer Studie von Cunningham et al [159] war ein deutlicher Anstieg innerhalb der ersten 24 Stunden nach Trauma zu beobachten. Im weiteren Beobachtungszeitraum der hier vorgelegten Studie war bei den Schwerbrandverletzten ein konstanter Anstieg hin zu Tag 10 zu beobachten (Tabelle 9, Abbildung 9); bei den Polytraumapatienten zeigte sich der höchsten Wert an Tag 3 mit einem Abfall im Folgenden (Tabelle 9, Abbildung 10). Diesem Muster entspricht eine Beobachtung von Fang et al., die die höchsten LBP-Werte 12 Stunden nach Verbrennung maßen und ca. 48 Stunden danach auf das Ausgangslevel abgefallen waren [160]. Weshalb in dieser Studie nach Verbrennung eine anhaltend hohe LBP-Konzentration bestand, müsste durch weitere Untersuchungen evaluiert werden Ein möglicher Ansatz wäre die katalytische Funktion von LBP im Sinne eines Scavenger-Moleküls. Normalerweise bindet LBP an LPS und aktiviert über die Bindung an CD14 die Immunantwort von Monozyten. Bei sehr hohen Endotoxinkonzentrationen bindet LBP jedoch LPS und inaktiviert es durch die von löslichem CD14-Rezeptor vermittelte Internalisierung in HDL. Damit wird eine Bindung von LPS an membranständigem CD14 auf

DISKUSSION

Monozyten oder Makrophagen unterbunden und so eine überschießende Sekretion proinflammatorischer Zytokine verhindert [68, 70]. So konnte gezeigt werden, dass unter anderem eine unveränderte oder sogar gesteigerte LBP-Sekretion (neben anderen Faktoren wie der Expression von CD14, TLR-2 und TLR-4 Rezeptoren) zu einer Endotoxintoleranz beiträgt [161].

Dementsprechend ließ sich auch in der vorgelegten Studie eine positive Korrelation zwischen der Endotoxinaktivität und der LBP Konzentration über den gesamten Beobachtungszeitraum messen (Tabelle 16, Abbildung 27). An den einzelnen Tagen war dies nur für Tag 7 der Fall (Tabelle 16); die fehlende Korrelation an den übrigen Beobachtungstagen kann verschiedener Einflussfaktoren (z.B. Aktivierung der Akut-Phase-Reaktion durch erneute Operationen bzw. gesteigerte LBP Freisetzung auf gram-positive Infektionen) oder der kleinen Studienpopulation und der starken Streuung der Werte geschuldet sein.

4.4. CRP

Zur Unterscheidung zwischen SIRS und Sepsis wurde in einer Studie von Lavrentieva et al. mit Verbrennungspatienten die Procalcitonin- (PCT), CRP-, Neutrophilen- und Leukozytenkonzentrationen im Blut, sowie die Temperatur gemessen. Es zeigte sich nur für PCT ein signifikanter Unterschied zwischen Sepsis und alleinigem SIRS. Bei Temperatur, Neutrophilen und Leukozyten ergab sich kein Unterschied; ebenso zeigte sich in allen Gruppen erhöhte CRP-Werte, so dass hier ebenfalls keine Unterscheidungsmöglichkeiten gegeben waren [162]. Castelli et al beschreibt hingegen einen CRP-Spiegel von 12,8 mg/dl als Schwellenwert für die Diagnose einer Sepsis bei Intensivpatienten [163]. Die höchsten CRP Werte ließen sich in unserer Studie in beiden Patientenkollektiven an Tag 3 nach Trauma messen (Tabelle 9, Abbildung 11, Abbildung 12). Bei Castelli et al. wurden für CRP Maximalwerte in einem Intervall von 24-48 Stunden nach Trauma beobachtet [163]. Da in dem hier verwendeten Ansatz an Tag 2 protokollgemäß keine Daten erhoben wurden, lassen sich die Daten hinsichtlich dieser Beobachtung nicht analysieren. Es besteht jedoch eine ähnliche Tendenz. Der relative späte Peak ist in der langsamen Kinetik des CRPs zu sehen, das erst 12 bis 24 Stunden nach Infektion beginnt anzusteigen [15]. Bei einer belgischen Studie wiesen erhöhte CRP-Werte bei Aufnahme auf die Intensivstation (heterogenes Patientenkollektiv) auf eine schlechtere Prognose mit höheren MOV-Raten und längerem Intensivaufenthalt im Verlauf hin, im Vergleich zu jenen Patienten mit im Normbereich gelegenen Werten [164]. Sie beschreiben ab einem CRP-Wert von 10 mg/dl erhöhte Raten an Organversagen für das respiratorische, renale und Gerinnungssystem. Anhaltend erhöhte

DISKUSSION

Werte für das CRP auch nach 48 Stunden seien mit einer deutlich erhöhten Mortalität vergesellschaftet (60,9% vs. 15,4% bei einem Abfall nach 48 Stunden). In der Gruppe der Schwerbrandverletzten zeigten sich ebenfalls lang anhaltend hohe CRP-Werte, wohingegen bei den Polytraumapatienten nach einem Gipfel an Tag 3 ein Abfall zu beobachten war (Tabelle 9, Abbildung 11, Abbildung 12). Indirekt kann hier eine Übereinstimmung mit den Daten von Lobo et al. hergestellt werden, da in der Gruppe der Schwerbrandverletzten verglichen mit den Polytraumapatienten in der vorgelegten Studie ein wesentlich schlechteres Outcome bestand: 39% vs. 13% Mortalität, 92% vs. 47% MOV, 100% vs. 47% Sepsis und 36,0 (17,0-44,5) Tage vs. 7,0 (5,0-14,0) Tage Aufenthalt auf der Intensivstation (Tabelle 8). In einer anderen Studie an Patienten mit Organversagen ließ sich jedoch wiederum kein Zusammenhang zwischen CRP-Verlauf und Mortalität herstellen [165], wobei es sich dort bei 40 eingeschlossenen Patienten um ein deutlich kleineres Kollektiv als bei Lobo et al. (313 Patienten) handelt, so dass hier eine mögliche Ursache liegen könnte. Eine statistisch signifikante Korrelation bestand für die Tage 7 und 10, sowie den gesamten Beobachtungszeitraum zwischen der Endotoxinaktivität und der CRP Konzentration, so dass bei hoher Endotoxinaktivität auch deutlich höhere CRP Werte zu messen waren (Tabelle 16, Abbildung 28). Hier wäre eine relevanten gram-negativen Infektion als Ursache der CRP Erhöhung denkbar, wobei die fehlende Übereinstimmung an den anderen Tagen in der langsamen Kinetik des CRPs bzw. der gesteigerten Produktion auf verschiedene Stimuli geschuldet sein kann (es kann sowohl bei bakteriellen, als auch bei abakteriellen Infektionen, sowie sterilen Entzündungsreaktionen erhöht sein [60]).

4.5. LEUKOZYTEN

In dieser Studie waren in beiden Patientenkollektiven bei Aufnahme erhöhte Leukozytenwerte zu messen (16,90 (12,80-20,30) G/l bei den Schwerbrandverletzten bzw. 12,90 (6,60-17,10) G/l bei den Polytraumapatienten) (Tabelle 9, Abbildung 13, Abbildung 14). Höhere weiße Blutkörperchenzahlen bei Aufnahme gehen mit einer höheren Verletzungsschwere nach stumpfem Trauma einher. Dies zeigte Paladino et al. in einer Studie, bei welcher der ISS Cut Off zur Unterscheidung einer leichten bzw. einer schweren Verletzung bei 15 Punkten lag. Die Leukozytenwerte aller Patienten mit ISS größer bzw. auch kleiner 15 lagen jedoch noch mit 10,53 G/l bzw. 8,92 G/l im Normbereich [166]. In der vorliegenden Studie wurden bei den Polytraumapatienten mit gleichem Einschlusskriterien (ISS \geq 16) ein ähnlicher Leukozytenwert gemessen (Tabelle 9, Abbildung 14); jedoch lag der Wert bei den Schwerbrandverletzten deutlich höher (Tabelle 9, Abbildung 13), was eventuell durch den anderen Verletzungsmechanismus und entsprechender physiologischer Reaktion

DISKUSSION

begründet ist. Chang et al. konnten in einem polytraumatisierten Patientenkollektiv am Aufnahmetag signifikant erhöhte Werte bei hohem ISS nachweisen, jedoch keine Unterschiede in Bezug auf Organschädigungen, Schock, Operationen und die Notwendigkeit einer Bluttransfusion [167]. Lediglich die Neutrophilenzahl, welche in unserer Studie nicht flächendeckend erfasst wurde, habe einen prognostischen Effekt auf das Überleben von Traumapatienten, nicht jedoch die gesamte Leukozytenzahl [168]. Im Gegensatz hierzu wurde für Schwerbrandverletzte neben Alter und dem Anteil der verbrannten Körperoberfläche ein erhöhtes Mortalitätsrisiko beschrieben, wenn bei Aufnahme die Leukozyten erhöht sind [169]. Aufgrund der geringen Patientenzahlen in der hier vorgelegten Studie wurde auf eine Korrelation zwischen Überleben und den einzelnen Parametern aber verzichtet. Bezüglich der Entwicklung einer Sepsis nach Verbrennungstrauma waren auch in anderen Studien [170] keine signifikanten Unterschiede für die Leukozytenwerte beschrieben. Lediglich PCT, welches in dieser Studie nicht bestimmt wurde, hatte deutlich höhere Werte in der Gruppe der septischen Patienten [171]. Korreliert man die Leukozytenwerte mit der Endotoxinaktivität ergibt sich für den Tag 3 nach Trauma eine starke negative Korrelation (Korrelationskoeffizient $-0,615$), so dass hier eine hohe Endotoxinaktivität mit einer Leukopenie einhergeht (Tabelle 16). In der Literatur wird eine schwere Verbrennungsverletzung, sowie auch eine Endotoxinämie als Ursache einer frühen Leukopenie beschrieben [172], so dass in der vorliegenden Studie diese beiden Faktoren eine Rolle spielen können.

4.6. LAKTAT

Sowohl nach Polytrauma, als auch nach Verbrennungsverletzung waren bei den Patienten am Aufnahmetag die höchsten Laktatspiegel u.a. als Zeichen der Minderperfusion bzw. Schock zu messen (6,45 (4,90-9,44) mmol/l bei Schwerbrandverletzten bzw. 2,51 (1,90-5,57) mmol/l bei Polytraumapatienten). In beiden Gruppen fiel das Laktat im Verlauf auf Werte um 2 mmol/l ab (Tabelle 9, Abbildung 15, Abbildung 16). In einer von Vohra et al. veröffentlichten Studie waren bei Traumapatienten bei Aufnahme ähnlich leicht erhöhte Laktatwerte zu messen (im Mittel 2,91 mmol/l, wobei die Studie keine Angaben zur Verletzungsschwere nach ISS macht). Die Autoren billigten dem Laktat aber einen insgesamt geringe Bedeutung zu [173]. Im Gegensatz dazu wurde in anderen Studie der prädiktive Wert des Laktats (und des Basendefizits) bei Aufnahme bzw. die Laktatclearance innerhalb der ersten sechs Stunden bezüglich der Mortalität herausgestellt [174, 175]. Insbesondere bei initial hohen Laktatwerten (> 5 mmol/l) scheint die Laktatclearance in den ersten beiden Stunden eine besondere prognostische Rolle inne zu haben [176]; die

DISKUSSION

Laktatclearance wurde jedoch in der vorliegenden Studie nicht erhoben. Bei Patienten nach schwerer Verbrennungsverletzung waren bei Aufnahme ebenso erhöhte Laktatkonzentrationen, vereinbar mit anderen Studien, zu messen [177] (Tabelle 9, Abbildung 15). In jener Studie fielen diese nach 24-32 Stunden in den Normbereich ab; bei unserem Patientenkollektiv waren erst an Tag 3 grenzwertig normale Werte zu bestimmen, wobei keine Daten für Tag 2 vorliegen, so dass u.U. bereits dort ein Abfall der Laktatwerte zu messen gewesen wäre. Erhöhte Laktatwerte (so wie auch ein hoher Basendefizit) bei Aufnahme bzw. deren unzureichender Abfall gingen auch bei dieser Patientengruppe mit einer erhöhten Mortalität einher [178-180]. Dasselbe gilt auch für Patienten, die initial mit einer Sepsis aufgenommen wurden [181, 182]; so scheinen bei Aufnahme erhöhte Laktatspiegel, bzw. deren unzureichender Abfall unabhängig von der zur Aufnahme führenden Erkrankung/Unfall mit einer deutlich reduzierten Überlebenschance einherzugehen. Bezüglich eines MOV scheinen anhaltend hohe Laktatspiegel bei Patienten mit septischem Schock, wesentlich mehr Vorhersagekraft für das Behandlungsergebnis zu besitzen als der Ausgangswert [183]. Bei der SEPSIS-3 Definition stellen bereits Laktatspiegel über 2 mmol/l ein Kriterium zur Diagnose eines septischen Schocks dar und sind mit einer erhöhten Mortalität vergesellschaftet [29]. So können die hier gemessenen erhöhten Laktatwerte bei Aufnahme und die im folgenden Beobachtungszeitraum grenzwertig erhöhten Laktatspiegel in beiden Patientenkollektiven (Tabelle 9, Abbildung 15, Abbildung 16) auch im Sinne eines persistierenden Schockgeschehens bzw. okkultem Schocks interpretiert werden. Dementsprechend könnten auch die erhöhten Endotoxinwerte (Tabelle 9, Tabelle 10, Tabelle 11, Abbildung 7, Abbildung 8) durch eine im Rahmen des persistierenden Schock bestehende Barrierestörung u.a. im Darm und damit einhergehender Translokation von Endotoxin erklärt werden [184]. Eine weitere Überlegung ist ein vermehrter Laktatanstieg auf das Endotoxin selbst, wie es von Michaeli et al. bei gesunden Freiwilligen gezeigt werden konnte [66]. In der vorliegenden Studie zeigt sich jedoch lediglich für Tag 3 eine positive Korrelation der Laktatwerte und der Endotoxinaktivität im gesamten Patientenkollektiv (Tabelle 16, Abbildung 30), so dass sich zu den Ergebnissen von Michaeli et al. keine eindeutige Übereinstimmung darstellen ließ.

4.7. HMGB-1

Dong et al. untersuchten die HMGB-1 Konzentrationen bei Schwerbrandverletzten und sahen bei allen erhöhte HMGB-1 Werte an Tag 1 [185], ebenso wie in der hier vorliegenden Studie, bei welcher jedoch nochmals deutlich höhere Werte am Tag des Unfalls (in beiden Patientenkollektiven) mit einem Abfall über den weiteren Beobachtungszeitraum gemessen

DISKUSSION

werden konnten (Tabelle 9, Abbildung 17); ähnlich zeigten sich hier außerdem die HMGB-1-Werte nach Polytrauma (Tabelle 9, Abbildung 18). Korreliert man die HMGB-1-Konzentrationen mit der Endotoxinaktivität (unabhängig vom Verletzungsmuster) ergibt sich für zwei Beobachtungstage (Tag 3 und 5) eine positive Korrelation (Tabelle 16). Als möglicher Beitrag kann hier die Bindung von LPS an HMGB-1 (und andere Proteine) und dessen Präsentation an CD14 Rezeptoren und damit die gesteigerte Sensitivität gegenüber LPS gesehen werden [77]. Eine gesteigerte HMGB-1 Expression, als Zeichen der Gewebeerstörung, konnte bei Fang et al. nach Verbrennungsverletzungen in verschiedenen Organen nachgewiesen werden, einhergehend mit systemisch erhöhten Parametern für eine Organschädigung, so dass HMGB-1 einen Beitrag zur Endotoxin-vermittelten Organschädigung leisten könnte [186]. Dong et al. zeigten unter Verwendung des LAL-Tests, dass es eine Beziehung zwischen hohen Endotoxinwerten und HMGB-1 zu geben scheint. Die chinesische Forschungsgruppe konnte zudem an den Tagen 7, 21 und 28 nach Verbrennung bei septischen Patienten höhere Werte als bei nicht-septischen Patienten messen [185]. Eine andere Studie von Huang et al. deckt sich ebenfalls mit den Ergebnissen dieser Studie. Auch dort wurde eine erhöhte HMGB-1 Expression nach schweren Verbrennungen beschrieben; außerdem konnten sie bei septischen Patienten und/oder jenen welche verstarben nochmals deutlich höhere HMGB-1 Werte messen [187]. In einem Tiermodell nach Verbrennung wurden ebenso erhöhte HMGB-1 Konzentrationen in den Tagen 1 bis 5 nach Trauma gemessen. Damit einhergehend war zudem eine Suppression der T-Zellen in der Milz über die Tage 1-7 zu beobachten, so dass von Zhang et al. vermutet wurde, dass eine erhöhte HMGB-1 Expression zu einer T-Zell-vermittelten Immunsuppression führt [188]. Ein weiterer von Zeng et al. entdeckter Punkt scheint ein Genpolymorphismus innerhalb des HMGB-1 Proteins zu sein, so dass einige genetische Varianten stärker mit der posttraumatischen LPS-induzierten Sepsis und MOV assoziiert sind als andere und somit zur Risikoabschätzung genutzt werden könnten [189]. Hier könnten sich in der Zukunft weitere diagnostische Möglichkeiten ergeben. Es bleibt unklar, ob ein direkter Zusammenhang zwischen Ausmaß des Gewebeschadens und der Höhe der Endotoxinaktivität besteht. Auch hier sollte in Erwägung gezogen werden, dass Schock und Ausmaß des Gewebeschadens in Beziehung stehen und dass eine hohe Endotoxinaktivität Ausdruck des Schocks und nicht direkt Folge des Gewebetraumas sein könnten, eine Annahme, die in anderen Experimenten zu klären wäre. Einen ersten entsprechenden Ansatz stellt Horst et al. in einer Studie dar, bei welcher an einem Tiermodell gezeigt werden konnte, dass höhere HMGB-1 Werte bei den Schweinen zu messen waren, die einen schweren hämorrhagischen Schock erlitten (bei gleicher Verletzungsschwere des Polytraumas) [190].

4.8. CATHEPSIN-X

Cathepsin-X wurde von Nögler et al. als immunologischer Marker für eine Monozyten- und Makrophagenaktivierung beschrieben. In einer Studie von ihrer Arbeitsgruppe konnten bei Polytraumapatienten der höchste Wert an Tag 3 nach dem Unfall [96], ebenso wie in der hier vorliegenden Studie, gemessen werden (Tabelle 9, Abbildung 20). In ihrer Studie zeigte sich bei jenen Patienten, die im Verlauf verstorben sind ein deutlicher Anstieg der Cathepsin X Werte an Tag 3, wohin gegen bei den überlebenden Patienten nur ein geringer Anstieg im Vergleich zu gesunden Probanden zu sehen war [96]. Auf Grund der geringen Patientenzahl war jedoch in der vorliegenden Studie keine Differenzierung zwischen überlebenden und verstorbenen Patienten möglich. In der vorliegenden Studie wurden auch in der Gruppe der Schwerbrandverletzten ab dem dritten Tag nach Verbrennung erhöhte Konzentrationen festgestellt, wobei in diesem Patientenkollektiv sogar höhere Absolutwerte zu messen waren als nach Polytrauma, jedoch ebenso wie bei den Polytraumapatienten ohne statistisch signifikanten Unterschied zum Unfalltag (Tabelle 9, Abbildung 19, Abbildung 20). Bei den Schwerbrandverletzten waren auch im weiteren Beobachtungszeitraum anhaltend hohe Werte zu messen, im Unterschied zu den Polytraumapatienten, bei welchen ein Abfall auf Normwerte zu erkennen war (Tabelle 9, Abbildung 19, Abbildung 20). Diese Beobachtung könnte mit der hohen Sepsisrate und den konstant hohen Endotoxinwerten bei den Schwerbrandverletzten zu tun haben. Es scheint eine Beziehung zwischen hohen Cathepsin X Werten und einer hohen Endotoxinaktivität zu bestehen. In der vorliegenden Studie konnte für die einzelnen Tage 3, 7 und 10 ebenso wie für den gesamten Beobachtungszeitraum eine Korrelation gezeigt werden (für den gesamten Zeitraum hochsignifikant mit $p=0,000000242$) (Tabelle 16, Abbildung 32). In einem Zellmodell zur Neuroinflammation wurden ebenso unter LPS Einfluss erhöhte Cathepsin X Werte in den Kulturüberständen gemessen; zudem konnte die Studie zeigen, dass eine Hemmung des Cathepsin X zu einer verminderten LPS-induzierten Freisetzung von Stickstoffmonoxid und anderen proinflammatorischen Zytokinen und damit einer verminderten Neurotoxizität führt [191]. Inwieweit diese Beobachtungen auf andere Zellen übertragbar sind muss noch geklärt werden.

4.9. PMN-ELASTASE

Am ersten Tag nach Trauma lassen sich in beiden Patientengruppen die höchsten PMN-Elastase Konzentrationen messen (Tabelle 9, Abbildung 21, Abbildung 22), vereinbar mit einer zytokingesteuerten Reaktion der Granulozyten auf das Trauma. Da am Tag 0, an dem

DISKUSSION

bereits fast ebenso hohe Werte wie an Tag 1 zu beobachten sind (Tabelle 9, Abbildung 21, Abbildung 22), und an diesen Tagen die Endotoxinaktivität meist im niedrigen oder mittleren Bereich liegt (Tabelle 9, Tabelle 10, Tabelle 11, Abbildung 7, Abbildung 8), scheint es unwahrscheinlich, dass die Freisetzung über LPS getriggert wurde. So zeigte sich auch lediglich für den Tag 3 eine Korrelation zwischen PMN-Elastase und der Endotoxinaktivität (Tabelle 16). Mit den bislang veröffentlichten Ergebnissen einer LPS gesteuerten Freisetzung der Elastase [93, 94] scheinen die hier vorgelegten Ergebnisse also nicht übereinzustimmen. In einer von Draisma et al. veröffentlichten Studie war bei gesunden Freiwilligen nach LPS Gabe zunächst an Tag 1 eine deutlich gesteigerte Elastasefreisetzung zu messen; ab Tag 5 war jedoch die Produktion von Elastase und anderen proinflammatorischen Zytokinen deutlich vermindert, was im Rahmen der Endotoxintoleranz gewertet wurde [192]. In einem Tierexperiment konnte gezeigt werden, dass nach Verbrennung und intraabdomineller Infektion PNM-Elastase erhöht war und dass sich die Konzentration noch weiter steigern ließ, wenn gleichzeitig eine erhöhte Myeloperoxidase-Aktivität und eine gesteigerte mikrovaskulärer Gefäßpermeabilität zu messen waren. Die Autoren schlussfolgerten, dass die Aktivierung der PMN-Elastase nach Verbrennungstrauma durch die Zerstörung des Mikrovaskulärensystems mit Sepsis, MOV und einer erhöhten Letalität assoziiert ist [193]. Zur gesteigerten Elastasefreisetzung scheint es, neben LPS, ein großes Trauma zu bedürfen, da eine alleinige Röhrenknochen- bzw. Beckenfraktur keine vermehrte Produktion und Freisetzung auslösen konnte [194]; entsprechend dieser Beobachtung ließen sich bei den Polytraumapatienten in dieser Studie auch erhöhte Elastasewerte messen (Tabelle 9, Abbildung 22). Posttraumatisch erhöhte Elastasewerte scheinen mit einer gesteigerten Rate an MOV und Mortalität einherzugehen, wie u.a. von Nast-Kolb et al. gezeigt wurde [195]. Dementsprechend wurde in den letzten Jahren an Inhibitoren der neutrophilen Elastase (z.B. Sivelestat) geforscht um die Folgen der Elastase-Wirkung im Hinblick auf MOV zu reduzieren. In mehreren Studien konnte der positive Effekt dieser Hemmung belegt werden [196, 197].

4.10. NEOPTERIN/KREATININ QUOTIENT

In einer chinesischen Studie stieg der Neopterinpiegel, als Ausdruck der Monozyten- und Makrophagenaktivierung, an Tag 3 nach Verbrennungstrauma an und zeigte in der zweiten Woche nach Trauma bei einer Endotoxinämie deutlich höhere Werte als ohne Endotoxinnachweis. Außerdem waren ebenso höhere Werte bei septischen Patienten, als bei aseptischen zu messen, was aber erst an Tag 14 bis 28 signifikant wurde [105]. In der vorliegenden Studie war sowohl nach Poly-, als auch nach Verbrennungstrauma ein stetiger

DISKUSSION

Anstieg des Neopterin/Kreatinin Quotienten über den Beobachtungszeitraum (bis Tag 10) mit höheren Werten bei den Schwerbrandverletzten zu bestimmen verglichen mit denen der Polytraumapatienten (705,52 (424,42-779,68) $\mu\text{mol/mol}$ vs. 340,56 (256,80-401,35) $\mu\text{mol/mol}$) (Tabelle 9, Abbildung 23, Abbildung 24). In einer von Mommsen et al. veröffentlichten Studie zeigten sich unter den Polytraumapatienten erhöhte Werte bei jenen mit MOV [107], so dass die geringere MOV Rate von 47% verglichen zu 92% bei den Schwerverbrennungspatienten dazu beigetragen haben kann (Tabelle 8). Eine mögliche weitere Ursache der höheren Expression bei den Schwerbrandverletzten könnte in der durchweg höheren Endotoxinaktivität liegen (Tabelle 9, Tabelle 10, Tabelle 11, Abbildung 7, Abbildung 8). Die Ausgangswerte in beiden Gruppen waren ähnlich (Tabelle 9, Abbildung 23, Abbildung 24). So zeigt sich auch über den gesamten Zeitraum (und an Tag 10) unabhängig vom Verletzungsmuster eine positive Korrelation des Neopterin/Kreatinin Quotienten mit der Endotoxinaktivität (Tabelle 16, Abbildung 34), was diese These stützt und mit den Ergebnissen von Yao et al. und Troppmair et al., die bereits 1988 in vitro eine vermehrte Neopterinproduktion nach LPS Stimulation nachweisen konnten, übereinstimmt [105, 106].

4.11. HLA-DR

In dieser Studie zeigte sich sowohl nach Polytrauma als auch Verbrennungsverletzung eine signifikant verminderte HLA-DR Expression der einzelnen Beobachtungstage verglichen mit der vom Unfalltag (bei den Schwerbrandverletzten statistisch signifikant für die Tage 5 und 7, sowie für die Tage 1 bis 10 bei den Polytraumapatienten) (Tabelle 9, Abbildung 25, Abbildung 26). Dahingegen beschreiben Flohé et al. eine gleichbleibende HLA-DR Expression nach schwerem Trauma. Sie beschreiben aber einen Abfall nach erneuter schwerer Operation, wie Beckenosteosynthese oder intramedullärer Nagelung; kleinere Operationen, wie z.B. Osteosynthesen an peripheren Gelenken, zeigten keine Veränderung [198]. Hershman et al. konnten ebenso einen deutlichen Abfall der HLA-DR Expression nach Trauma messen; ein erneuter Anstieg der Expressionsstärke korrelierte mit dem klinischen Ergebnis (bei unkompliziertem Verlauf normalisierten sich die Werte nach ca. einer Woche, bei septischem Verlauf nach drei Wochen und bei jenen Patienten die verstarben, blieb die HLA-DR Expression herab reguliert) [112]. Bei einer Studie mit Schwerbrandverletzten zeigte sich auch eine niedrigere Expression als in der Kontrollgruppe, welche weiter abfiel, wenn die Patienten eine Sepsis entwickelten [113]. In einer Gruppe polytraumatisierter Patienten konnte Lendemans et al. ebenso direkt nach Trauma eine verminderte HLA-DR Expression messen, welche bei jenen Patienten mit MOV im weiteren Verlauf erneut abfiel [199]. Eine ähnliche Beobachtung zeigt sich in einer Studie von Vester et al., bei welcher alle Patienten

DISKUSSION

nach Trauma eine verminderte HLA-DR Expression zeigen, wobei bei jenen mit MOV die Werte etwas niedriger waren, jedoch ohne statistische Signifikanz; es zeigte sich jedoch kein Unterschied zwischen jenen die ein SIRS oder Sepsis entwickelten und denen mit unkompliziertem Verlauf; ab Tag 10 normalisierten sich die Werte bei allen Patienten wieder [145]. Der Abfall der HLA-DR Expression in der vorliegenden Studie könnte dementsprechend, wie bei Yang et al. und Ledemans et al. beschrieben in den hohen Sepsis und MOV-Raten der hier eingeschlossenen Patienten liegen (Tabelle 8). Ein weiterer Ansatz kann eine LPS induzierte Reduktion der HLA-DR Expression auf Monozyten im Rahmen einer Endotoxintoleranz sein, wie sie von Wolk et al. in einem in-vitro Modell beschrieben wurde [115]. Entsprechend ließ sich insbesondere bei den Schwerbrandverletzten, jedoch auch bei einigen der Polytraumapatienten eine erhöhte Endotoxinaktivität ab dem Tag 1 bzw. 3 messen (Tabelle 9, Tabelle 10, Tabelle 11, Abbildung 7, Abbildung 8), so dass hier auch im Sinne einer Endotoxintoleranz (zur Vermeidung einer überschießenden Entzündungsreaktion) die Expression von HLA-DR auf den Monozyten gedrosselt wurde bzw. eine Immunsuppression ausgelöst wurde. Dementsprechend zeigt sich auch über den gesamten Beobachtungszeitraum eine negative Korrelation der HLA-DR Expressionsstärke mit der Endotoxinaktivität (Tabelle 16, Abbildung 35). Die fehlende Korrelation an den einzelnen Beobachtungstagen kann in der geringen Patientenzahl und dem Einfluss weiterer Faktoren, wie Operationen etc. (s.o.) auf die HLA-Expression begründet sein. Zusammenschauend scheint es auf Grund eines Traumas (Polytrauma/Verbrennungsverletzung) zu einer relevanten Endotoxinämie zu kommen (wobei zu klären bleibt welcher Genese die Endotoxinämie ist) in deren Folge die HLA-DR Expression auf den Monozyten vermindert wird und es damit einhergehenden zu einer Immunsuppression kommt (um eine überschießende Immunreaktion zu vermeiden (Endotoxintoleranz)); weitere Komplikationen, wie Operationen, Organversagen, erneute Infekte scheinen eine zusätzliche HLA-DR Suppression auszulösen.

4.12. SCHLUSSFOLGERUNG

Diese Studie hatte zum Ziel verschiedene Parameter der inflammatorischen Antwort nach schwerer Verbrennungsverletzung bzw. Polytrauma im klinischen Verlauf zu beobachten und die Rolle des Endotoxins in diesem Zusammenhang zu betrachten. Es zeigte sich, dass alle Schwerbrandverletzten an mindestens einem Beobachtungstag eine hohe Endotoxinaktivität haben (gemessen anhand des neuen EAA-Tests) und die Aktivität ab Tag 3 bis einschließlich Tag 10 im mittleren oder hohen Aktivitätsbereich liegt (s. 3.3). In der Gruppe der Polytraumapatienten ergab sich, trotz ähnlicher Verletzungsschwere anhand des SAPS II

DISKUSSION

Scores an Tag 1, ein wesentlich inhomogeneres Bild, so dass der Traumamechanismus und der initiale Krankheitsverlauf auf die Endotoxinfreisetzung einen Einfluss auszuüben scheint. Welche Faktoren jedoch hier den entscheidenden Einfluss ausüben, konnte in dieser Studie nicht geklärt werden. Mögliche Ansätze könnten ein persistierendes Schockgeschehen mit folgender Schrankenstörung und Freisetzung aus dem Darm (s. 4.2) sein (hierzu passende konstant grenzwertig erhöhte Laktatspiegel über den Beobachtungszeitraum in beiden Patientenkollektiven als Ausdruck eines Schocks (s. 3.7), eine antibiotische Therapie, welche die Endotoxinfreisetzung fördert (s. 4.2) und, wie vom Hersteller angegeben, eine gram-negative Sepsis (mikrobiologischer Nachweis gram-negativer Keime bei 84,6% der Verbrennungspatienten (s. 3.1, 4.2)) sein, wobei zu diskutieren bleibt, ob es sich wirklich um eine relevante gram-negative Infektion bei den entsprechenden Patienten handelt. Die SIRS Kriterien nach Bone et al. sind bei fast allen Patienten nach schwerem Gewebetrauma positiv, so dass auch in der vorliegenden Studie alle Patienten (sowohl nach Polytrauma als auch nach Verbrennungsverletzung) ein SIRS aufwiesen (s. 4.1). Auch der CRP Wert kann, wie bereits in vorangegangenen Studien gezeigt, keine Differenzierung zwischen steriler und bakterieller (oder abakterieller) Infektion darstellen, so dass die in dieser Studie gemessene Korrelation der Endotoxinaktivität und der CRP-Werte im gesamten Beobachtungszeitraum auch keine richtungsweisende Erkenntnis zur Differenzierung der Genese der Endotoxinämie beiträgt, sehr wohl aber die Akut-Phase-Reaktion unterstreicht, die offenbar als Folge der erhöhten Endotoxinaktivität besteht. Welche Genese die Endotoxinämie auch hat, so hat sie einen relevanten Einfluss auf das Immunsystem, so dass es auch in Zell- oder Tiermodellen zur Induktion einer Sepsis verwendet wird. So korrelieren hohe Endotoxinwerte auch in dieser Studie mit hohen Neopterin/Kreatinin Quotienten (s. 3.13.9) und Cathepsin X Werten (s. 3.13.7), welche über eine Monozyten/Makrophagenaktivierung an der proinflammatorischen Antwort beteiligt sind (s. 4.8); in Zukunft könnte in der Hemmung des Cathepsin X, der PMN-Elastase oder anderer proinflammatorischer Parameter ein therapeutischer Ansatz einer überschießenden Immunreaktion auf einen LPS Stimulus liegen (s. 4.8, 4.9). Es scheint jedoch auch physiologisch eine Hemmung einer überschießenden Immunreaktion auf Endotoxin zu geben, im Sinne einer Endotoxintoleranz. Hierbei bindet z.B. LBP an LPS und inaktiviert es durch eine Internalisierung in HDL (s. 4.3) oder es kommt durch eine verminderte HLA-DR Expression auf den Monozyten zu einer Immunsuppression (s. 4.11). So ließ sich auch in der vorliegenden Studie im gesamten Beobachtungszeitraum eine positive Korrelation zwischen LBP und der Endotoxinaktivität (s. 3.13.2) und eine negative Korrelation zwischen der HLA-DR Expressionsstärke und der Endotoxinaktivität (s. 3.13.10) darstellen.

Endotoxin scheint einen wesentlichen Einfluss auf die pathophysiologischen Veränderung nach einem Trauma auszuüben. Diesen deskriptiven Ergebnissen sollten weitere Studien mit

DISKUSSION

größeren Patientenzahlen zur Überprüfung und Weiterführung der Resultate um die Ursachen der Endotoxämie und deren immunologische Folgen, sowie die physiologischen Prozesse, die, im Sinne einer Endotoxintoleranz, eine überschießenden Immunreaktion verhindern weiter erforscht werden. Möglicher Wechselbeziehungen zwischen den einzelnen Parametern und Einflussgrößen, wie z.B. der Antibiotikatherapie oder des Verletzungsmusters könnten hier ebenfalls eine Rolle spielen. Aus den Ergebnissen könnten sich mögliche Ansätze zur Regulation der Immunfunktion und Interventionen zur Vermeidung oder Therapie einer schweren Sepsis nach schwerem Trauma ergeben.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel dieser Studie war es verschiedene Parameter der inflammatorischen Antwort nach schwerer Verbrennungsverletzung (mit einem Anteil von mindestens 20% zweitgradig verbrannter Körperoberfläche) bzw. nach schwerer Mehrfachverletzung (mit einer Verletzungsschwere nach ISS von 16 oder mehr Punkten (Polytrauma) vom Unfalltag bis Tag 10 nach dem Trauma zu messen und die Rolle des Endotoxins in diesem Zusammenhang zu beobachten. Endotoxin, ein Lipopolysaccharid (LPS) aus der Zellwand gram-negativer Bakterien, das eine wichtige Rolle in der Pathophysiologie der inflammatorischen Antwort, bei der Pathogenese der Sepsis aber auch als entzündlicher Stimulus in experimentellen Modellen, spielt, wurde in einem neuen Essay (EAA) gemessen, der im Gegensatz zu dem bislang gängigen LAL-Test die Aktivität von LPS auch in an LBP und anderen Proteinen gebundener Form bestimmt. So konnte die Endotoxinaktivität und die weiteren Parameter (LBP, CRP, Leukozyten, Laktat, HMGB-1, Cathepsin-X, PMN-Elastase, Neopterin/Kreatinin Quotient und HLA-DR) abhängig vom Unfallmechanismus (thermisches und mechanisches Gewebetrauma) über den Beobachtungszeitraum beschrieben und die Endotoxinaktivität mit den anderen untersuchten Parametern unabhängig vom Unfallmechanismus korreliert werden, um deren Interaktionen aufzuzeigen.

Von den in dieser Studie eingeschlossenen Patienten (13 Schwerbrandverletzte, 15 Polytraumapatienten) entwickelten 92% der Patienten nach schwerer Verbrennungsverletzung und 47% der Polytraumapatienten ein MOV, bzw. 100% der Schwerbrandverletzten, und 47% mit einem Polytrauma eine Sepsis (auf der Basis der Definition nach Bone et al.).

In der Gruppe der Schwerbrandverletzten zeigten sich bei allen Patienten ab Tag 3 eine mittlere und hohe Endotoxinaktivität, vereinbar mit einer Endotoxinämie. Dementsprechend gelang auch bei 84,6% der schwerbrandverletzten Patienten der Nachweis gram-negativer Keime in mikrobiologisch untersuchten Proben und es zeigte sich eine Übereinstimmung zwischen einer hohen Endotoxinaktivität und der Diagnose einer Sepsis.

Bei den Polytraumapatienten zeigten sich im Gegensatz zum Verbrennungstrauma deutlich inhomogenere Werte mit starken Schwankungen, wobei keiner der Patienten lediglich niedrige Endotoxinaktivitäten über den Beobachtungszeitraum aufweisen konnte. In diesem Patientenkollektiv gelang nur bei 26,7% der Patienten der mikrobiologische Nachweis einer gram-negativen Infektion und es konnte keine Übereinstimmung zwischen einer hohen Endotoxinaktivität und dem Vorhandensein einer Sepsis dargestellt werden. Es bleibt zu diskutieren, ob der Anstieg der Endotoxinwerte der Polytraumapatienten in Abwesenheit von

ZUSAMMENFASSUNG

klinisch nachgewiesenen gram-negativen Infektionen nicht z.B. im Rahmen eines Schockgeschehens zu erklären ist, bei dem Endotoxin der natürlichen Darmflora aufgrund von Schrankenstörungen in den Blutkreislauf des Patienten gelangt und ob nicht tatsächlich nur ein Teil der Patienten eine relevante gram-negative Infektion durchmachte. Bei beiden Patientenkollektiven finden sich durchgehend grenzwertig erhöhte Laktatspiegel, die vereinbar sein könnten mit Mikrozirkulationsstörungen z.B. im Bereich des Darms. Eine echte Korrelation zwischen Laktatspiegeln und Endotoxinaktivität findet sich aber in den gepoolten Daten nur für einen einzigen Beobachtungszeitpunkt (Tag 3), so dass insgesamt keine direkte Beziehung zwischen Laktatspiegeln und einer Endotoxinämie belegt werden kann.

In beiden Patientenkollektiven zeigten die Endotoxinaktivität und die LBP-Konzentrationen einen parallelen Verlauf und es ließ sich über den gesamten Beobachtungszeitraum eine Korrelation zwischen diesen beiden Parametern darstellen. Diese Beobachtung kann mit der katalytischen Funktion des LBP erklärt werden, wodurch die inflammatorische Antwort abgeschwächt wird und es zu einer Endotoxintoleranz kommt. Als direkte Folge des Traumas mit Gewebeischämie bzw. Gewebeerstörung lassen sich für Laktat und HMGB-1 in beiden Patientenkollektiven, am Tag des Unfalls die höchsten Werte mit einem Abfall im weiteren Beobachtungszeitraum messen. Wie auch bereits in anderen Studien gezeigt wurde, kommt es aufgrund des Traumas zu einer Reduktion der HLA-DR Expressionsstärke und damit zu einer Immunsuppression. Sowohl für Laktat als auch für HMGB-1 wurde bereits eine gesteigerte Produktion unter LPS Einfluss belegt, was sich in der vorgelegten Studie mit einer positiven Korrelation der Parameter jedoch nur an einzelnen Beobachtungstagen (Tag 3 für Laktat und Endotoxinaktivität, Tage 3 und 5 für HMGB-1 und Endotoxinaktivität) bestätigte. Die Abnahme der HLA-DR Expression steht ebenso im Zusammenhang mit einer hohen Endotoxinaktivität, wie sich in einer negativen Korrelation über den gesamten Beobachtungszeitraum zeigte (dies scheint nach Studienlage auch zu einer Endotoxintoleranz beizutragen). Desweiteren kommt es in Folge des Traumas, im Sinne einer Akut-Phase-Reaktion, zu einem Anstieg der PMN-Elastase, als Marker für die Aktivierung von Granulozyten, sowie zu einer Monozyten- und Makrophagenaktivierung, messbar durch einen Anstieg der Cathepsin X und Neopterin/Kreatininwerte. Sowohl für Cathepsin X als auch für den Neopterin/Kreatinin Quotienten besteht eine positive Korrelation mit der Endotoxinaktivität über den gesamten Zeitraum (für die PMN-Elastase lediglich für Tag 3), was bereits in anderen Studien im Zusammenhang mit einer Endotoxintoleranz gewertet wurde.

Endotoxin scheint einen wesentlichen Einfluss auf die pathophysiologischen Veränderung nach einem Trauma auszuüben. Hier sollte in weiterführenden Studien die Ursachen der Endotoxinämie und deren immunologische Folgen, sowie die physiologischen Prozesse, die,

ZUSAMMENFASSUNG

im Sinne einer Endotoxintoleranz, eine überschießenden Immunreaktion verhindern weiter erforscht werden, weil sich daraus mögliche Ansätze zur Regulation der Immunfunktion und Interventionen zur Vermeidung oder Therapie einer schweren Sepsis ergeben könnten.

6. TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1	Einteilung der Verbrennungsschwere	4
Tabelle 2	Bone-Kriterien zur Diagnose eines SIRS	5
Tabelle 3	SAPS II Score	20
Tabelle 4	RISC Score	21
Tabelle 5	ABSI Score	22
Tabelle 6	SOFA Score	23
Tabelle 7	Absorptions- und Emissionsspektren der verwendeten Fluorochrome	29
Tabelle 8	Patientencharakteristik	34
Tabelle 9	Übersicht über die Ergebnisse	35
Tabelle 10	Endotoxinaktivität der Schwerbrandverletzten	38
Tabelle 11	Endotoxinaktivität der Polytraumapatienten .	38
Tabelle 12	Endotoxinaktivität und Sepsis bei Schwerbrandverletzten	38
Tabelle 13	Endotoxinaktivität und Nachweis gram-negativer Bakterien bei Schwerbrandverletzten	39
Tabelle 14	Endotoxinaktivität und Sepsis bei Polytraumapatienten	39
Tabelle 15	Endotoxinaktivität und Nachweis gram-negativer Bakterien bei Polytraumapatienten	39
Tabelle 16	Übersicht über die Korrelationen der Endotoxinaktivität mit den weiteren untersuchten Parametern	52

7. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1	„Neuner-Regel“ nach Wallace	3
Abbildung 2	Struktur des LPS	9
Abbildung 3	Signaltransduktionsweg im Monozyten	10
Abbildung 4	Funktion des LBP	13
Abbildung 5	Zeitlicher Verlauf der Probenentnahme	24
Abbildung 6	Prinzip des Endotoxin Activity Assays	27
Abbildung 7	Endotoxinaktivität bei Schwerbrandverletzten	37
Abbildung 8	Endotoxinaktivität bei Polytraumapatienten	37
Abbildung 9	LBP-Konzentrationen bei Schwerbrandverletzten	40
Abbildung 10	LBP-Konzentrationen bei Polytraumapatienten	40
Abbildung 11	CRP-Werte bei Schwerbrandverletzten	41
Abbildung 12	CRP-Werte bei Polytraumapatienten	41
Abbildung 13	Leukozytenzahl bei Schwerbrandverletzten	42
Abbildung 14	Leukozytenzahl bei Polytraumapatienten	42
Abbildung 15	Laktatwerte bei Schwerbrandverletzten	43
Abbildung 16	Laktatwerte bei Polytraumapatienten	44
Abbildung 17	HMGB-1 Konzentrationen bei Schwerbrandverletzten	45
Abbildung 18	HMGB-1 Konzentrationen bei Polytraumapatienten	45
Abbildung 19	Cathepsin X Werte bei Schwerbrandverletzten	46
Abbildung 20	Cathepsin X Werte bei Polytraumapatienten	46
Abbildung 21	PMN-Elastasekonzentrationen bei Schwerbrandverletzten	47
Abbildung 22	PMN-Elastasekonzentrationen bei Polytraumapatienten	47
Abbildung 23	Neopterin/Kreatinin Quotient bei Schwerbrandverletzten	48
Abbildung 24	Neopterin/Kreatinin Quotient bei Polytraumapatienten	49
Abbildung 25	HLA-DR Expression bei Schwerbrandverletzten	50
Abbildung 26	HLA-DR Expression bei Polytraumapatienten	50
Abbildung 27	Korrelation zwischen Endotoxinaktivität und LBP	53
Abbildung 28	Korrelation zwischen Endotoxinaktivität und CRP	54
Abbildung 29	Korrelation zwischen Endotoxinaktivität und Leukozyten	54
Abbildung 30	Korrelation zwischen Endotoxinaktivität und Laktat	55
Abbildung 31	Korrelation zwischen Endotoxinaktivität und HMGB-1	56
Abbildung 32	Korrelation zwischen Endotoxinaktivität und Cathepsin X	56
Abbildung 33	Korrelation zwischen Endotoxinaktivität und PMN-Elastase	57
Abbildung 34	Korrelation zwischen Endotoxinaktivität und Neopterin	58
Abbildung 35	Korrelation zwischen Endotoxinaktivität und HLA-DR Expression	58

8. LITERATURVERZEICHNIS

1. Trentz, O., et al., [*Criteria for the operability of patients with multiple injuries (author's transl)*]. Unfallheilkunde, 1978. 81(6): p. 451-8.
2. Copes, W.S., et al., *The Injury Severity Score revisited*. J Trauma, 1988. 28(1): p. 69-77.
3. Baker, S.P. and B. O'Neill, *The injury severity score: an update*. J Trauma, 1976. 16(11): p. 882-5.
4. Kramer, C.F., J.I. Barancik, and H.C. Thode, Jr., *Improving the sensitivity and specificity of the abbreviated injury scale coding system*. Public Health Rep, 1990. 105(4): p. 334-40.
5. Pape, H.C., et al., *The definition of polytrauma revisited: An international consensus process and proposal of the new 'Berlin definition'*. J Trauma Acute Care Surg, 2014. 77(5): p. 780-786.
6. DGU, T. *Jahresbericht 2015*. 2015; Available from: http://www.traumaregister-dgu.de/fileadmin/user_upload/traumaregister-dgu.de/docs/Downloads/TR-DGU-Jahresbericht_2015.pdf.
7. Debus, F., et al., *Numbers of Severely Injured Patients in Germany. A Retrospective Analysis From the DGU (German Society for Trauma Surgery) Trauma Registry*. Dtsch Arztebl Int, 2015. 112(49): p. 823-9.
8. Regel, G., et al., [*Results of treatment of polytraumatized patients. A comparative analysis of 3,406 cases between 1972 and 1991*]. Unfallchirurg, 1993. 96(7): p. 350-62.
9. DGU, T. *Jahresbericht 2014*. 2014; Available from: http://www.traumaregister.de/images/stories/downloads/jahresberichte/TR-DGU-Jahresbericht_2014.pdf.
10. Lefering, R.N., Ulrike. *Jahresbericht 2013, TraumaRegister DGU*. 2013; Available from: http://www.traumaregister.de/images/stories/downloads/jahresberichte/TR-DGU-Jahresbericht_2013.pdf.
11. Trupkovic, T. and G. Giessler, [*Burn trauma. Part 1: pathophysiology, preclinical care and emergency room management*]. Anaesthesist, 2008. 57(9): p. 898-907.
12. Wallace, A.B., *The exposure treatment of burns*. Lancet, 1951. 1(6653): p. 501-4.
13. Neitzel, C. and K. Ladehof, *Taktische Medizin: Notfallmedizin und Einsatzmedizin*. 2011: Springer Berlin Heidelberg.
14. Klose, R., [*Predicting outcomes of burned patients*]. Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther, 2003. 38(3): p. 141-2.
15. Striebel, H.W., *Die operative Intensivmedizin: Sicherheit in der klinischen Praxis*. Vol. 1. 2007: Schattauer. 816.
16. Schütt, C. and B. Bröker, *Grundwissen Immunologie*. 2011: Spektrum Akademischer Verlag.
17. Wendel, M., A.R. Heller, and T. Koch, [*Pathomechanisms of organ failure. Mitochondrial dysfunction in sepsis*]. Anaesthesist, 2009. 58(4): p. 343-52.
18. Foell, D., H. Wittkowski, and J. Roth, *Mechanisms of disease: a 'DAMP' view of inflammatory arthritis*. Nat Clin Pract Rheumatol, 2007. 3(7): p. 382-90.
19. Hirsiger, S., et al., *Danger signals activating the immune response after trauma*. Mediators Inflamm, 2012. 2012: p. 315941.
20. Sims, G.P., et al., *HMGB1 and RAGE in inflammation and cancer*. Annu Rev Immunol, 2010. 28: p. 367-88.
21. Bone, R.C., et al., *Sepsis syndrome: a valid clinical entity. Methylprednisolone Severe Sepsis Study Group*. Crit Care Med, 1989. 17(5): p. 389-93.
22. Levy, M.M., et al., *2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference*. Crit Care Med, 2003. 31(4): p. 1250-6.
23. Bone, R.C., *Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS*. Crit Care Med, 1996. 24(7): p. 1125-8.

LITERATURVERZEICHNIS

24. Ni Choileain, N. and H.P. Redmond, *The immunological consequences of injury*. Surgeon, 2006. 4(1): p. 23-31.
25. Bone, R.C., C.J. Grodzin, and R.A. Balk, *Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process*. Chest, 1997. 112(1): p. 235-43.
26. Osuchowski, M.F., et al., *Sepsis chronically in MARS: systemic cytokine responses are always mixed regardless of the outcome, magnitude, or phase of sepsis*. J Immunol, 2012. 189(9): p. 4648-56.
27. Gentile, L.F., et al., *Persistent inflammation and immunosuppression: a common syndrome and new horizon for surgical intensive care*. J Trauma Acute Care Surg, 2012. 72(6): p. 1491-501.
28. Moore, F.A. and E.E. Moore, *Evolving concepts in the pathogenesis of postinjury multiple organ failure*. Surg Clin North Am, 1995. 75(2): p. 257-77.
29. Singer, M., et al., *The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3)*. Jama, 2016. 315(8): p. 801-10.
30. Rose, S. and I. Marzi, *Mediators in polytrauma--pathophysiological significance and clinical relevance*. Langenbecks Arch Surg, 1998. 383(3-4): p. 199-208.
31. Keel, M. and O. Trentz, *Pathophysiology of polytrauma*. Injury, 2005. 36(6): p. 691-709.
32. Sparkes, B.G., *Immunological responses to thermal injury*. Burns, 1997. 23(2): p. 106-13.
33. Burchardi, H., et al., *Die Intensivmedizin*. 2011: Springer.
34. Groß, U., *Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. 2013: Thieme. 1.
35. Rensing, H., *[Endotoxins. Pathogenetic meaning of sepsis]*. Anaesthesist, 2003. 52 Suppl 1: p. S7-S13.
36. Michie, H.R., et al., *Detection of circulating tumor necrosis factor after endotoxin administration*. N Engl J Med, 1988. 318(23): p. 1481-6.
37. Suffredini, A.F., et al., *The cardiovascular response of normal humans to the administration of endotoxin*. N Engl J Med, 1989. 321(5): p. 280-7.
38. Suffredini, A.F., P.C. Harpel, and J.E. Parrillo, *Promotion and subsequent inhibition of plasminogen activation after administration of intravenous endotoxin to normal subjects*. N Engl J Med, 1989. 320(18): p. 1165-72.
39. Opal, S.M., et al., *Relationship between plasma levels of lipopolysaccharide (LPS) and LPS-binding protein in patients with severe sepsis and septic shock*. J Infect Dis, 1999. 180(5): p. 1584-9.
40. Farmer, T.W., *The Jarisch-Herxheimer-reaction in early syphilis treated with crystalline penicillin G*. J Clin Invest, 1948. 27(4): p. 532.
41. Galloway, R.E., et al., *Activation of protein mediators of inflammation and evidence for endotoxemia in Borrelia recurrentis infection*. Am J Med, 1977. 63(6): p. 933-8.
42. Jackson, J.J. and H. Kropp, *beta-Lactam antibiotic-induced release of free endotoxin: in vitro comparison of penicillin-binding protein (PBP) 2-specific imipenem and PBP 3-specific ceftazidime*. J Infect Dis, 1992. 165(6): p. 1033-41.
43. Trautmann, M., et al., *Antibacterial activity of meropenem against Pseudomonas aeruginosa, including antibiotic-induced morphological changes and endotoxin-liberating effects*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1998. 17(11): p. 754-60.
44. Ziegler, E.J., et al., *Treatment of gram-negative bacteremia and shock with human antiserum to a mutant Escherichia coli*. N Engl J Med, 1982. 307(20): p. 1225-30.
45. Greenman, R.L., et al., *A controlled clinical trial of E5 murine monoclonal IgM antibody to endotoxin in the treatment of gram-negative sepsis. The XOMA Sepsis Study Group*. Jama, 1991. 266(8): p. 1097-102.
46. Ziegler, E.J., et al., *Treatment of gram-negative bacteremia and septic shock with HA-1A human monoclonal antibody against endotoxin. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. The HA-1A Sepsis Study Group*. N Engl J Med, 1991. 324(7): p. 429-36.

LITERATURVERZEICHNIS

47. Calandra, T., et al., *Treatment of gram-negative septic shock with human IgG antibody to Escherichia coli J5: a prospective, double-blind, randomized trial.* J Infect Dis, 1988. 158(2): p. 312-9.
48. *Prophylactic intravenous administration of standard immune globulin as compared with core-lipopolysaccharide immune globulin in patients at high risk of postsurgical infection. The Intravenous Immunoglobulin Collaborative Study Group.* N Engl J Med, 1992. 327(4): p. 234-40.
49. Bone, R.C., et al., *A second large controlled clinical study of E5, a monoclonal antibody to endotoxin: results of a prospective, multicenter, randomized, controlled trial. The E5 Sepsis Study Group.* Crit Care Med, 1995. 23(6): p. 994-1006.
50. Angus, D.C., et al., *E5 murine monoclonal antiendotoxin antibody in gram-negative sepsis: a randomized controlled trial. E5 Study Investigators.* Jama, 2000. 283(13): p. 1723-30.
51. McCloskey, R.V., et al., *Treatment of septic shock with human monoclonal antibody HA-1A. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. CHESSTrial Study Group.* Ann Intern Med, 1994. 121(1): p. 1-5.
52. *The French National Registry of HA-1A (Centoxin) in septic shock. A cohort study of 600 patients. The National Committee for the Evaluation of Centoxin.* Arch Intern Med, 1994. 154(21): p. 2484-91.
53. Giroir, B.P., et al., *Preliminary evaluation of recombinant amino-terminal fragment of human bactericidal/permeability-increasing protein in children with severe meningococcal sepsis.* Lancet, 1997. 350(9089): p. 1439-43.
54. Levin, M., et al., *Recombinant bactericidal/permeability-increasing protein (rBPI21) as adjunctive treatment for children with severe meningococcal sepsis: a randomised trial. rBPI21 Meningococcal Sepsis Study Group.* Lancet, 2000. 356(9234): p. 961-7.
55. Staubach, K.H., et al., *A new endotoxin adsorption device in Gram-negative sepsis: use of immobilized albumin with the MATISSE adsorber.* Transfus Apher Sci, 2003. 29(1): p. 93-8.
56. Cruz, D.N., et al., *Early use of polymyxin B hemoperfusion in abdominal septic shock: the EUPHAS randomized controlled trial.* Jama, 2009. 301(23): p. 2445-52.
57. Verbon, A., et al., *IC14, an anti-CD14 antibody, inhibits endotoxin-mediated symptoms and inflammatory responses in humans.* J Immunol, 2001. 166(5): p. 3599-605.
58. Bunnell, E., et al., *A lipid A analog, E5531, blocks the endotoxin response in human volunteers with experimental endotoxemia.* Crit Care Med, 2000. 28(8): p. 2713-20.
59. Tillett, W.S. and T. Francis, *SEROLOGICAL REACTIONS IN PNEUMONIA WITH A NON-PROTEIN SOMATIC FRACTION OF PNEUMOCOCCUS.* J Exp Med, 1930. 52(4): p. 561-71.
60. Gressner, A.M., H. Baum, and T. Arndt, *Springer Lexikon Klinische Chemie: Medizinische Labordiagnostik von A bis Z.* 2006: Springer.
61. Cermak, J., et al., *C-reactive protein induces human peripheral blood monocytes to synthesize tissue factor.* Blood, 1993. 82(2): p. 513-20.
62. Schmidt, F.L., F; Thews G *Physiologie des Menschen mit Pathophysiologie.* 2005, Springer. p. 539-549.
63. Denzlinger, C. *Leukozytose und Leukopenie rational abklären.* 2014; Available from: <http://www.allgemeinarzt-online.de/a/1646450>.
64. Van Aken, H., *Intensivmedizin.* 2007: Thieme.
65. Muhl, E., et al., *DIVI Jahrbuch 2013/2014: Fortbildung und Wissenschaft in der interdisziplinären Intensivmedizin und Notfallmedizin.* 2015: MWV Medizinisch Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH & Company KG.
66. Michaeli, B., et al., *Effects of endotoxin on lactate metabolism in humans.* Crit Care, 2012. 16(4): p. R139.
67. Tobias, P.S., K. Soldau, and R.J. Ulevitch, *Isolation of a lipopolysaccharide-binding acute phase reactant from rabbit serum.* J Exp Med, 1986. 164(3): p. 777-93.

LITERATURVERZEICHNIS

68. Zweigner, J., et al., *High concentrations of lipopolysaccharide-binding protein in serum of patients with severe sepsis or septic shock inhibit the lipopolysaccharide response in human monocytes.* Blood, 2001. 98(13): p. 3800-8.
69. Wright, S.D., et al., *Lipopolysaccharide (LPS) binding protein opsonizes LPS-bearing particles for recognition by a novel receptor on macrophages.* J Exp Med, 1989. 170(4): p. 1231-41.
70. Wurfel, M.M. and S.D. Wright, *Lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14 transfer lipopolysaccharide to phospholipid bilayers: preferential interaction with particular classes of lipid.* J Immunol, 1997. 158(8): p. 3925-34.
71. Zeldin, D.C., et al., *How exposures to biologics influence the induction and incidence of asthma.* Environ Health Perspect, 2006. 114(4): p. 620-6.
72. Blairon, L., X. Wittebole, and P.F. Laterre, *Lipopolysaccharide-binding protein serum levels in patients with severe sepsis due to gram-positive and fungal infections.* J Infect Dis, 2003. 187(2): p. 287-91.
73. Froom, A.H., et al., *Lipopolysaccharide toxicity-regulating proteins in bacteremia.* J Infect Dis, 1995. 171(5): p. 1250-7.
74. Scaffidi, P., T. Misteli, and M.E. Bianchi, *Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation.* Nature, 2002. 418(6894): p. 191-5.
75. Rendon-Mitchell, B., et al., *IFN-gamma induces high mobility group box 1 protein release partly through a TNF-dependent mechanism.* J Immunol, 2003. 170(7): p. 3890-7.
76. Wang, H., et al., *HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice.* Science, 1999. 285(5425): p. 248-51.
77. Wang, H., H. Yang, and K.J. Tracey, *Extracellular role of HMGB1 in inflammation and sepsis.* J Intern Med, 2004. 255(3): p. 320-31.
78. Peltz, E.D., et al., *HMGB1 is markedly elevated within 6 hours of mechanical trauma in humans.* Shock, 2009. 32(1): p. 17-22.
79. Kohno, T., et al., *Role of high-mobility group box 1 protein in post-infarction healing process and left ventricular remodeling.* Cardiovasc Res, 2009. 81(3): p. 565-73.
80. Goldstein, R.S., et al., *Elevated high-mobility group box 1 levels in patients with cerebral and myocardial ischemia.* Shock, 2006. 25(6): p. 571-4.
81. Nakamura, T., et al., *Effect of polymyxin B-immobilized fiber hemoperfusion on serum high mobility group box-1 protein levels and oxidative stress in patients with acute respiratory distress syndrome.* ASAIO J, 2009. 55(4): p. 395-9.
82. Tsung, A., et al., *The nuclear factor HMGB1 mediates hepatic injury after murine liver ischemia-reperfusion.* J Exp Med, 2005. 201(7): p. 1135-43.
83. Kazama, H., et al., *Induction of immunological tolerance by apoptotic cells requires caspase-dependent oxidation of high-mobility group box-1 protein.* Immunity, 2008. 29(1): p. 21-32.
84. Ohlsson, K. and I. Olsson, *The neutral proteases of human granulocytes. Isolation and partial characterization of granulocyte elastases.* Eur J Biochem, 1974. 42(2): p. 519-27.
85. Pham, C.T., *Neutrophil serine proteases fine-tune the inflammatory response.* Int J Biochem Cell Biol, 2008. 40(6-7): p. 1317-33.
86. Bedard, M., et al., *Release of interleukin-8, interleukin-6, and colony-stimulating factors by upper airway epithelial cells: implications for cystic fibrosis.* Am J Respir Cell Mol Biol, 1993. 9(4): p. 455-62.
87. Rice, A. and M.J. Banda, *Neutrophil elastase processing of gelatinase A is mediated by extracellular matrix.* Biochemistry, 1995. 34(28): p. 9249-56.
88. Renesto, P. and M. Chignard, *Enhancement of cathepsin G-induced platelet activation by leukocyte elastase: consequence for the neutrophil-mediated platelet activation.* Blood, 1993. 82(1): p. 139-44.
89. Pipoly, D.J. and E.C. Crouch, *Degradation of native type IV procollagen by human neutrophil elastase. Implications for leukocyte-mediated degradation of basement membranes.* Biochemistry, 1987. 26(18): p. 5748-54.

LITERATURVERZEICHNIS

90. Turkington, P.T., *Degradation of human factor X by human polymorphonuclear leucocyte cathepsin G and elastase*. Haemostasis, 1991. 21(2): p. 111-6.
91. Belaouaj, A., K.S. Kim, and S.D. Shapiro, *Degradation of outer membrane protein A in Escherichia coli killing by neutrophil elastase*. Science, 2000. 289(5482): p. 1185-8.
92. Neumeister, *Klinikleitfaden Labordiagnostik*. Vol. 4. Auflage. 2009: Elsevier Verlag. 785.
93. Dentener, M.A., et al., *Bactericidal/permeability-increasing protein release in whole blood ex vivo: strong induction by lipopolysaccharide and tumor necrosis factor-alpha*. J Infect Dis, 1997. 175(1): p. 108-17.
94. Rudolphus, A., et al., *Detection of extracellular neutrophil elastase in hamster lungs after intratracheal instillation of E. coli lipopolysaccharide using a fluorogenic, elastase-specific, synthetic substrate*. Am J Pathol, 1992. 141(1): p. 153-60.
95. Kos, J., Z. Jevnikar, and N. Obermajer, *The role of cathepsin X in cell signaling*. Cell Adh Migr, 2009. 3(2): p. 164-6.
96. Nagler, D.K., et al., *An enzyme-linked immunosorbent assay for human cathepsin X, a potential new inflammatory marker*. J Immunol Methods, 2006. 308(1-2): p. 241-50.
97. Nagler, D.K., et al., *A cysteine-type carboxypeptidase, cathepsin X, generates peptide receptor agonists*. Int Immunopharmacol, 2010. 10(1): p. 134-9.
98. Sakamoto, E., et al., *Cathepsin Y (a novel thiol enzyme) produces kinin potentiating peptide from the component protein of rat plasma*. Immunopharmacology, 1999. 45(1-3): p. 207-14.
99. Nagler, D.K., et al., *Up-regulation of cathepsin X in prostate cancer and prostatic intraepithelial neoplasia*. Prostate, 2004. 60(2): p. 109-19.
100. Buhling, F., et al., *Cathepsins K, L, B, X and W are differentially expressed in normal and chronically inflamed gastric mucosa*. Biol Chem, 2004. 385(5): p. 439-45.
101. Wendt, W., et al., *Differential expression of cathepsin X in aging and pathological central nervous system of mice*. Exp Neurol, 2007. 204(2): p. 525-40.
102. Baydar, T., et al., *Neopterin as a prognostic biomarker in intensive care unit patients*. J Crit Care, 2009. 24(3): p. 318-21.
103. Fuchs, D., et al., *The role of neopterin as a monitor of cellular immune activation in transplantation, inflammatory, infectious, and malignant diseases*. Crit Rev Clin Lab Sci, 1992. 29(3-4): p. 307-41.
104. Niederwieser, D., C. Huber, and H. Wachter, *[Neopterin, a new biochemical marker for the detection of activated T lymphocytes]*. Wien Klin Wochenschr, 1983. 95(5): p. 161-4.
105. Yao, Y., Y. Yu, and Z. Sheng, *[Serum neopterin levels after extensive burns and their relationship to endotoxemia and sepsis]*. Zhonghua Zheng Xing Shao Shang Wai Ke Za Zhi, 1997. 13(5): p. 357-60.
106. Troppmair, J., et al., *In-vitro and in-vivo studies on the induction of neopterin biosynthesis by cytokines, alloantigens and lipopolysaccharide (LPS)*. Clin Exp Immunol, 1988. 74(3): p. 392-7.
107. Mommsen, P., et al., *Elevated systemic IL-18 and neopterin levels are associated with posttraumatic complications among patients with multiple injuries: a prospective cohort study*. Injury, 2009. 40(5): p. 528-34.
108. Mangge, H., et al., *Antioxidants, inflammation and cardiovascular disease*. World J Cardiol, 2014. 6(6): p. 462-77.
109. Coico Richard, S.G., *Immunology: A Short Course*. 2009: John Wiley & Sons.
110. Fumeaux, T. and J. Pugin, *Role of interleukin-10 in the intracellular sequestration of human leukocyte antigen-DR in monocytes during septic shock*. Am J Respir Crit Care Med, 2002. 166(11): p. 1475-82.
111. Gonwa, T.A. and J.D. Stobo, *Differential expression of Ia molecules by human monocytes*. J Clin Invest, 1984. 74(3): p. 859-66.
112. Hershman, M.J., et al., *Monocyte HLA-DR antigen expression characterizes clinical outcome in the trauma patient*. Br J Surg, 1990. 77(2): p. 204-7.
113. Yang, H.M., et al., *Low HLA-DR expression on CD14+ monocytes of burn victims with sepsis, and the effect of carbachol in vitro*. Burns, 2008. 34(8): p. 1158-62.

LITERATURVERZEICHNIS

114. Docke, W.D., et al., *Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN-gamma treatment*. Nat Med, 1997. 3(6): p. 678-81.
115. Wolk, K., et al., *Multiple mechanisms of reduced major histocompatibility complex class II expression in endotoxin tolerance*. J Biol Chem, 2003. 278(20): p. 18030-6.
116. Le Gall, J.R., S. Lemeshow, and F. Saulnier, *A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study*. JAMA, 1993. 270(24): p. 2957-63.
117. Lefering, R., *Development and validation of the revised injury severity classification score for severely injured patients*. 2009(5): p. 437-447.
118. Brilej, D., M. Vlaovic, and R. Komadina, *Improved prediction from revised injury severity classification (RISC) over trauma and injury severity score (TRISS) in an independent evaluation of major trauma patients*. J Int Med Res, 2010. 38(4): p. 1530-8.
119. Lefering, R., et al., *Update of the trauma risk adjustment model of the TraumaRegister DGU: the Revised Injury Severity Classification, version II*. Crit Care, 2014. 18(5): p. 476.
120. Tobiasen, J., J.M. Hiebert, and R.F. Edlich, *The abbreviated burn severity index*. Ann Emerg Med, 1982. 11(5): p. 260-2.
121. Vincent, J.L., et al., *The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine*. Intensive Care Med, 1996. 22(7): p. 707-10.
122. Vincent, J.L., et al., *Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. Working group on "sepsis-related problems" of the European Society of Intensive Care Medicine*. Crit Care Med, 1998. 26(11): p. 1793-800.
123. Romaschin, A.D., et al., *A rapid assay of endotoxin in whole blood using autologous neutrophil dependent chemiluminescence*. J Immunol Methods, 1998. 212(2): p. 169-85.
124. Gressner, A.M. and T. Arndt, *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*. 2013: Springer Berlin Heidelberg.
125. Rieth, M., *Pharmazeutische Mikrobiologie: Qualitätssicherung, Monitoring, Betriebshygiene*. 2013: Wiley.
126. (CHMP), C.F.M.P.F.H.U., *GUIDELINE ON THE REPLACEMENT OF RABBIT PYROGEN TESTING BY AN ALTERNATIVE TEST FOR PLASMA DERIVED MEDICINAL PRODUCTS*. 2007, COMMITTEE FOR MEDICINAL PRODUCTS FOR HUMAN USE (CHMP).
127. Romaschin, A.D., D.J. Klein, and J.C. Marshall, *Bench-to bedside review: Clinical experience with the endotoxin activity assay*. Crit Care, 2012. 16(6): p. 248.
128. Häcker, B., *Immunologie für Dummies*. 2014: Wiley-VCH.
129. Renz, H., *Praktische Labordiagnostik*. 2009: De Gruyter.
130. Hallbach, J., *Klinische Chemie und Hämatologie: Biomedizinische Analytik für MTLA und Studium*. 2011: Thieme.
131. Mayersbach, P., et al., *Commercial enzyme-linked immunosorbent assay for neopterin detection in blood donations compared with RIA and HPLC*. Clin Chem, 1994. 40(2): p. 265-6.
132. Wachter, H., et al., *Neopterin as marker for activation of cellular immunity: immunologic basis and clinical application*. Adv Clin Chem, 1989. 27: p. 81-141.
133. Kallinen, O., et al., *Multiple organ failure as a cause of death in patients with severe burns*. J Burn Care Res, 2012. 33(2): p. 206-11.
134. Bloemsma, G.C., et al., *Mortality and causes of death in a burn centre*. Burns, 2008. 34(8): p. 1103-7.
135. Lehmann, U., et al., *[Does initial management of polytrauma patients have an effect on the development of multiple organ failure? Evaluation of preclinical and clinical data of 1,112 polytrauma patients]*. Unfallchirurg, 1995. 98(8): p. 442-6.

LITERATURVERZEICHNIS

136. Nguyen, L.N. and T.G. Nguyen, *Characteristics and outcomes of multiple organ dysfunction syndrome among severe-burn patients*. Burns, 2009. 35(7): p. 937-41.
137. Faist, E., et al., *Multiple organ failure in polytrauma patients*. J Trauma, 1983. 23(9): p. 775-87.
138. Regel, G., et al., *Pattern of organ failure following severe trauma*. World J Surg, 1996. 20(4): p. 422-9.
139. Grotz, M., et al., [*Scoring multiple organ failure after severe trauma. Comparison of the Goris, Marshall and Moore scores*]. Chirurg, 2001. 72(6): p. 723-30.
140. Becher, R.D., et al., *Systemic inflammation worsens outcomes in emergency surgical patients*. J Trauma Acute Care Surg, 2012. 72(5): p. 1140-9.
141. Greenhalgh, D.G., et al., *American Burn Association consensus conference to define sepsis and infection in burns*. J Burn Care Res, 2007. 28(6): p. 776-90.
142. Hogan, B.K., et al., *Correlation of American Burn Association sepsis criteria with the presence of bacteremia in burned patients admitted to the intensive care unit*. J Burn Care Res, 2012. 33(3): p. 371-8.
143. Jeschke, M.G., et al., *Morbidity and survival probability in burn patients in modern burn care*. Crit Care Med, 2015. 43(4): p. 808-15.
144. Mokline, A., et al., *Procalcitonin: a diagnostic and prognostic biomarker of sepsis in burned patients*. Ann Burns Fire Disasters, 2015. 28(2): p. 116-20.
145. Vester, H., et al., *HLA-DR expression on monocytes is decreased in polytraumatized patients*. Eur J Med Res, 2015. 20: p. 84.
146. Hensler, T., et al., *The clinical value of procalcitonin and neopterin in predicting sepsis and organ failure after major trauma*. Shock, 2003. 20(5): p. 420-6.
147. Seymour, C.W., et al., *Assessment of Clinical Criteria for Sepsis: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3)*. Jama, 2016. 315(8): p. 762-74.
148. Winchurch, R.A., J.N. Thupari, and A.M. Munster, *Endotoxemia in burn patients: levels of circulating endotoxins are related to burn size*. Surgery, 1987. 102(5): p. 808-12.
149. Zhang, Y.P., [*Determination of blood endotoxin in severely burned patients and its clinical significance*]. Zhonghua Zheng Xing Shao Shang Wai Ke Za Zhi, 1989. 5(2): p. 100-2, 157.
150. Ulrich, D., E.M. Noah, and N. Pallua, [*Plasma endotoxin, procalcitonin, C-reactive protein, and organ functions in patients with major burns*]. Handchir Mikrochir Plast Chir, 2001. 33(4): p. 262-6.
151. Dobke, M.K., et al., *Endotoxemia after burn injury: effect of early excision on circulating endotoxin levels*. J Burn Care Rehabil, 1989. 10(2): p. 107-11.
152. Ban, Y., H. Shen, and T.S. Li, [*An experimental study of a rat model with MODS as a result of trauma induced infection*]. Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue, 2008. 20(1): p. 41-4.
153. Yao, Y.M., et al., *The association of circulating endotoxaemia with the development of multiple organ failure in burned patients*. Burns, 1995. 21(4): p. 255-8.
154. Roumen, R.M., et al., *Intestinal permeability after severe trauma and hemorrhagic shock is increased without relation to septic complications*. Arch Surg, 1993. 128(4): p. 453-7.
155. Herndon, D.N. and S.T. Zeigler, *Bacterial translocation after thermal injury*. Crit Care Med, 1993. 21(2 Suppl): p. S50-4.
156. Cap, R., D. Dobes, and F. Hosek, *Testing intestinal permeability in rats with burns and administration of early enteral nutrition*. Acta Chir Plast, 2003. 45(3): p. 109-12.
157. Vianna, R.C., et al., *Antibiotic treatment in a murine model of sepsis: impact on cytokines and endotoxin release*. Shock, 2004. 21(2): p. 115-20.
158. Tao, L., et al., *Risk factors for central line-associated bloodstream infection in patients with major burns and the efficacy of the topical application of mupirocin at the central venous catheter exit site*. Burns, 2015. 41(8): p. 1831-8.
159. Cunningham, S.C., et al., *Serum lipopolysaccharide-binding protein concentrations in trauma victims*. Surg Infect (Larchmt), 2006. 7(3): p. 251-61.

LITERATURVERZEICHNIS

160. Fang, C.W., et al., *Lipopolysaccharide-binding protein and lipopolysaccharide receptor CD14 gene expression after thermal injury and its potential mechanism(s)*. J Trauma, 2002. 53(5): p. 957-67.
161. Fan, H. and J.A. Cook, *Molecular mechanisms of endotoxin tolerance*. J Endotoxin Res, 2004. 10(2): p. 71-84.
162. Lavrentieva, A., et al., *Inflammatory markers in patients with severe burn injury. What is the best indicator of sepsis?* Burns, 2007. 33(2): p. 189-94.
163. Castelli, G.P., et al., *Procalcitonin, C-reactive protein, white blood cells and SOFA score in ICU: diagnosis and monitoring of sepsis*. Minerva Anestesiol, 2006. 72(1-2): p. 69-80.
164. Lobo, S.M., et al., *C-reactive protein levels correlate with mortality and organ failure in critically ill patients*. Chest, 2003. 123(6): p. 2043-9.
165. Meisner, M., et al., *Comparison of procalcitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP) plasma concentrations at different SOFA scores during the course of sepsis and MODS*. Crit Care, 1999. 3(1): p. 45-50.
166. Paladino, L., et al., *Leukocytosis as prognostic indicator of major injury*. West J Emerg Med, 2010. 11(5): p. 450-5.
167. Chang, D.C., et al., *Early leukocytosis in trauma patients: what difference does it make?* Curr Surg, 2003. 60(6): p. 632-5.
168. Lam, S.W., et al., *Comparison between the prognostic value of the white blood cell differential count and morphological parameters of neutrophils and lymphocytes in severely injured patients for 7-day in-hospital mortality*. Biomarkers, 2012. 17(7): p. 642-7.
169. Yanculovich, N., et al., *Objective estimates of the risk factors for death and length of hospitalization following burn injuries, Soroka University Medical Center, 2001-2002*. Isr Med Assoc J, 2013. 15(4): p. 152-5.
170. Murray, C.K., et al., *Evaluation of white blood cell count, neutrophil percentage, and elevated temperature as predictors of bloodstream infection in burn patients*. Arch Surg, 2007. 142(7): p. 639-42.
171. Barati, M., et al., *Comparison of WBC, ESR, CRP and PCT serum levels in septic and non-septic burn cases*. Burns, 2008. 34(6): p. 770-4.
172. Mueller-Eckhardt, C. and V. Kiefel, *Transfusionsmedizin: Grundlagen — Therapie — Methodik*. 2013: Springer Berlin Heidelberg.
173. Vohra, T. and J. Paxton, *Abnormal arterial blood gas and serum lactate levels do not alter disposition in adult blunt trauma patients after early computed tomography*. West J Emerg Med, 2013. 14(3): p. 212-7.
174. Odom, S.R., et al., *Lactate clearance as a predictor of mortality in trauma patients*. J Trauma Acute Care Surg, 2013. 74(4): p. 999-1004.
175. Neville, A.L., et al., *Mortality risk stratification in elderly trauma patients based on initial arterial lactate and base deficit levels*. Am Surg, 2011. 77(10): p. 1337-41.
176. Regnier, M.A., et al., *Prognostic significance of blood lactate and lactate clearance in trauma patients*. Anesthesiology, 2012. 117(6): p. 1276-88.
177. Sanchez, M., et al., *A protocol for resuscitation of severe burn patients guided by transpulmonary thermodilution and lactate levels: a 3-year prospective cohort study*. Crit Care, 2013. 17(4): p. R176.
178. Andel, D., et al., *Base deficit and lactate: early predictors of morbidity and mortality in patients with burns*. Burns, 2007. 33(8): p. 973-8.
179. Cochran, A., et al., *The relationship of serum lactate and base deficit in burn patients to mortality*. J Burn Care Res, 2007. 28(2): p. 231-40.
180. Kamolz, L.P., et al., *Lactate: early predictor of morbidity and mortality in patients with severe burns*. Burns, 2005. 31(8): p. 986-90.
181. Walker, C.A., et al., *Early lactate clearance in septic patients with elevated lactate levels admitted from the emergency department to intensive care: time to aim higher?* J Crit Care, 2013. 28(5): p. 832-7.
182. Wacharasint, P., et al., *Normal-range blood lactate concentration in septic shock is prognostic and predictive*. Shock, 2012. 38(1): p. 4-10.

LITERATURVERZEICHNIS

183. Bakker, J., et al., *Serial blood lactate levels can predict the development of multiple organ failure following septic shock*. Am J Surg, 1996. 171(2): p. 221-6.
184. Swank, G.M. and E.A. Deitch, *Role of the gut in multiple organ failure: bacterial translocation and permeability changes*. World J Surg, 1996. 20(4): p. 411-7.
185. Dong, N., et al., *[Changes in plasma high mobility group box-1 protein levels and its relationship with sepsis in severely burned patients]*. Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao, 2007. 29(4): p. 466-70.
186. Fang, W.H., et al., *The significance of changes in high mobility group-1 protein mRNA expression in rats after thermal injury*. Shock, 2002. 17(4): p. 329-33.
187. Huang, L.F., et al., *Association of high mobility group box-1 protein levels with sepsis and outcome of severely burned patients*. Cytokine, 2011. 53(1): p. 29-34.
188. Zhang, L.T., et al., *Relationship between high-mobility group box 1 protein release and T-cell suppression in rats after thermal injury*. Shock, 2008. 30(4): p. 449-55.
189. Zeng, L., et al., *Clinical relevance of single nucleotide polymorphisms of the high mobility group box 1 protein gene in patients with major trauma in southwest China*. Surgery, 2012. 151(3): p. 427-36.
190. Horst, K., et al., *Impact of haemorrhagic shock intensity on the dynamic of alarmins release in porcine poly-trauma animal model*. Eur J Trauma Emerg Surg, 2016. 42(1): p. 67-75.
191. Pislari, A., et al., *Inhibition of cathepsin X reduces the strength of microglial-mediated neuroinflammation*. Neuropharmacology, 2016. 114: p. 88-100.
192. Draisma, A., et al., *Development of endotoxin tolerance in humans in vivo*. Crit Care Med, 2009. 37(4): p. 1261-7.
193. Goto, M., et al., *Burn injury exacerbates hemodynamic and metabolic responses in rats with polymicrobial sepsis*. J Burn Care Res, 2006. 27(1): p. 50-9.
194. Bhatia, R., et al., *Neutrophil priming for elastase release in adult blunt trauma patients*. J Trauma, 2006. 60(3): p. 590-6.
195. Nast-Kolb, D., et al., *Indicators of the posttraumatic inflammatory response correlate with organ failure in patients with multiple injuries*. J Trauma, 1997. 42(3): p. 446-54; discussion 454-5.
196. Hoshi, K., et al., *Sivelestat, a neutrophil elastase inhibitor, reduces mortality rate of critically ill patients*. Tohoku J Exp Med, 2005. 207(2): p. 143-8.
197. Zeiher, B.G., et al., *Neutrophil elastase and acute lung injury: prospects for sivelestat and other neutrophil elastase inhibitors as therapeutics*. Crit Care Med, 2002. 30(5 Suppl): p. S281-7.
198. Flohe, S., et al., *Influence of surgical intervention in the immune response of severely injured patients*. Intensive Care Med, 2004. 30(1): p. 96-102.
199. Lendemans, S., et al., *[Clinical course and prognostic significance of immunological and functional parameters after severe trauma]*. Unfallchirurg, 2004. 107(3): p. 203-10.

9. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ABSI	Abbreviated Burn Severity Index
AIS	Abbreviated Injury Scale
ANOVA	Varianzanalyse
ARDS	acute respiratory distress syndrome
ATP	Adenosintriphosphat
BPI	bactericidal permeability increasing protein
BPP	bradykinin potentiating peptide
°C	Grad Celsius
ca.	circa
CARS	compensatory anti-inflammatory response syndrome
CD	cluster of differentiation
CR	complement receptor
CRF	Case Report Form
CRP	C-reaktives Protein
d	Tag
DAMP	damage-associated molecular pattern
DIC	disseminierte intravasale Gerinnung
DGU	Deutsche Gesellschaft für Unfallchirurgie
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EAA	Endotoxin Activity Assay
EAU	Endotoxin Activity Units
ECD	R-Phycoerythrin und Texas-Red
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ELISA	enzymvermittelter Immunoassays
FITC	Fluoresceinisothiocyanat
g	Gramm
GCS	Glasgow Coma Scale
GTP	Guanosintriphosphat
HBSS	Hanks' Balanced Salt Solution

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

HDL	high density lipoprotein
HLA	Humanes Leukozyten Antigen
HMGB-1	high-mobility-group-box 1
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IHT	Inhalationstrauma
IL	Interleukin
iNOS	induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase
ISS	Injury Severity Score
l	Liter
LAL	Limulus-Amöbozyten-Lysat
LBP	LPS-bindendes Protein
LDL	low density lipoprotein
LPS	Lipopolysaccharid
m	Meter
MARS	mixed antagonists response syndrome
MD	myeloid differentiation
MFI	mittlere Fluoreszenzintensität
MHC	major histocompatibility complex
MODS	Multiorgandysfunktionssyndrom
MOFS	multi organ failure syndrome
MOV	Multiorganversagen
n	Stichprobengröße
p	Signifikanzwert
PAMP	pathogen-associated molecular pattern
PBS	Phosphat-gepufferte-Saline
PMN	Poly-Morpho-Nuclear
PRR	pattern recognition receptor
PCT	Procalcitonin
PE	R-Phycoerythrin
PE-Cy5	Phycoerythrin-Cyan 5

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

RAGE	receptor for advanced glycation endproducts
RISC	Revised Injury Severity Classification Score
RLU	Relative Light Units
RNA	Ribonukleinsäure
ROS	reactive oxygen species
Sek.	Sekunde
s.	siehe
SAPS	Simplified Acute Physiological Score
SHT	Schädelhirntrauma
SOFA	Sepsis-related Organ Failure Assessment Score
sog.	sogenannt
TISS	Therapeutic Intervention Scoring System
TLR	toll-like receptor
TNF	Tumornekrosefaktor
U	Umdrehungen
VKOF	verbrannter Körperoberfläche
vs.	versus
ZNS	Zentrales Nervensystem

10. DANKSAGUNG

Abschließend möchte ich mich ganz herzlich bei allen bedanken, die mich bei der Entstehung dieser Arbeit unterstützt haben.

Mein ganz besonderer Dank richtet sich an Herrn Prof. Dr. Eugen Faist, meinen Doktorvater, der es mir ermöglichte dieses interessante Thema zu bearbeiten.

Bei den beiden Betreuern meiner Arbeit, Herrn Dr. Siegfried Zedler, dem ehemaligen Laborleiter, und Herrn Dr. Heiko Trentzsch möchte ich mich ganz, ganz herzlich für ihre Zeit und Ausdauer bei der Einarbeitung in das wissenschaftliche Arbeiten und in die Grundlagen dieses Themas, die konstruktiven Gespräche und nicht zuletzt die stetige Motivation bei der Fertigstellung der Arbeit bedanken. Herr Dr. Siegfried Zedler führte mich in die verschiedenen Methoden und die wissenschaftliche Auswertung der Ergebnisse ein und stand jederzeit im Labor mit Rat und Tat zur Seite, wofür ich ihm von Herzen danken möchte. Herr Dr. Heiko Trentzsch erklärte mir die grundlegenden pathophysiologischen Zusammenhänge und Behandlungsformen der Polytraumapatienten und war bei allen klinischen Fragen, die während der Studie auftraten, und auch bei der endgültigen Fertigstellung dieser Arbeit eine sehr große Hilfe, so dass ich auch ihm herzlichst danken möchte.

Frau Cornelia Limbach, welche die Laborleitung nach Herrn Dr. Siegfried Zedler übernahm, danke ich für ihre Unterstützung und konstruktive Kritik bei dem Abschluss der Arbeit.

Frau PD Dr. Dorit Nägler, Klinikum der Universität München, Standort Innenstadt, möchte ich für die Messung der PMN-Elastase und des Cathepsin X aus den eingefrorenen Plasmaproben danken.

Außerdem möchte ich Herrn Prof. Dr. Dietmar Fuchs von der Abteilung für Biochemie der Medizinischen Fakultät Innsbruck für die Bestimmung der Neopterinkonzentrationen aus den eingefrorenen Urinproben Danke sagen.

Dem Team der Intensivstation für Schwerbrandverletzte des Klinikums München Bogenhausen möchte ich für ihre Unterstützung und die Anrufe bei neu aufgenommenen Patienten danken. Insbesondere danke ich Herrn Dr. Johannes Rubenbauer, der mich in die Behandlung schwerbrandverletzter einführte und bei pathophysiologischen Prozessen unterstützte.

Zum Schluss möchte ich noch von ganzen Herzen meinen Eltern, meiner Schwester und besonders meinem Mann für die unendliche Unterstützung, Motivation, Hilfe und Geduld danken ohne die, die Entstehung der Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

11. EIDESSTÄTTLICHE VERSICHERUNG

Ich, Caroline Mögele-Schmid, erkläre hiermit an Eides statt,
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Endotoxinaktivität und deren Auswirkung auf immunologische Parameter im Verlauf nach schwerer Verbrennungsverletzung und Polytrauma

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Freising, 14.09.2017

Caroline Mögele-Schmid