

Aus der Klinik für Anästhesiologie

Universität München

Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. K. Peter

Wirkung von hypertoner, hyperonkotischer
Dextranlösung auf Parameter des
Energienstoffwechsels und polymorphkernige
Granulozyten bei operativer Ausschaltung eines
Bauchaortenaneurysmas

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Florian Setzer

Erding

2006

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. M. Thiel

Mitberichterstatter: Prof. Dr. H. Schad
Priv. Doz. Dr. St. S. Bolz

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. A. Choukèr

Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 11.05.2006

Meinen Eltern, Barbara und René

1. EINLEITUNG	1
1.1 Anästhesiologische und chirurgische Besonderheiten bei Operationen abdomineller Aortenaneurysmata.....	1
1.2 Pathophysiologie des Ischämie-Reperfusionsschadens.....	1
1.2.1 Störungen im Energiehaushalt der Zelle.....	1
1.2.2 Sekundärschäden durch Inflammation	3
1.3 Das Konzept der Small Volume Resuscitation.....	4
2. FRAGESTELLUNG.....	6
3. METHODIK UND MATERIAL	7
3.1 Methodik.....	7
3.1.1 Studienprotokoll	7
3.1.2 Messzeitpunkte, Probenentnahmen	9
3.1.3 Bestimmung der Plasmaosmolalität.....	9
3.1.4 Intraoperatives hämodynamisches Monitoring und Volumenbilanz.....	9
3.1.5 Parameter der Ischämie.....	10
3.1.6 Laktat, pH, BE	10
3.1.7 Zellzahlen, Interleukin 6 und 8	11
3.1.8 Parameter der Aktivierung von PMNL	11
3.1.9 Statistik.....	14
3.2 Material	14
3.2.1 Reagenzien	14
3.2.2 Geräte	16
3.2.3 Software	16
4. ERGEBNISSE	17
4.1 Klinische Parameter.....	17
4.1.1 Abklemmzeit, Studienpopulation.....	17
4.1.2 Intraoperative Hämodynamik und Volumenstatus	17
4.1.3 Osmolalität	20
4.2 Parameter des Energiestoffwechsels.....	21
4.2.1 Purine.....	21

4.2.2 Laktat und Säure-Basen-Haushalt.....	23
4.3 Parameter der Inflammation.....	25
4.3.1 Zellzahlen.....	25
4.3.2 Adhäsionsmoleküle.....	26
4.3.3 Produktion von Superoxidanionen.....	28
4.3.4 Zellvolumen.....	30
4.3.5 Interleukin 6 und 8.....	31
5. DISKUSSION.....	33
5.1 Ischämie-Reperfusion-bedingte Störungen im Energiestoffwechsel bei Ausschaltung eines infrarenalen Bauchaortenaneurysmas.....	33
5.2 Inflammationsreaktion und Aktivierung von polymorphkernigen Granulozyten.....	36
5.2.1 Adhäsionsmoleküle.....	36
5.2.2 Produktion von Superoxidanionen.....	37
5.2.3 Zellvolumen.....	39
5.2.4 Zytokine: Interleukin 6, 8.....	40
5.3 Klinischer Verlauf.....	41
6. ZUSAMMENFASSUNG UND SCHLUSSFOLGERUNG.....	43
7. ABKÜRZUNGEN.....	47
8. ZEITSCHRIFTENVERZEICHNIS.....	49
9. LITERATURVERZEICHNIS.....	51
10. VERÖFFENTLICHTE TEILASPEKTE.....	61
11. DANKSAGUNG.....	62
12. CURRICULUM VITAE.....	63

1. EINLEITUNG

1.1 Anästhesiologische und chirurgische Besonderheiten bei Operationen abdomineller Aortenaneurysmata

Die Mortalität von elektiven Operationen eines abdominalen Aortenaneurysmas konnte im Zeitraum von 1960 bis heute von 18 % [1] auf 5,5 % gesenkt werden [2-6]. Dennoch liegt eine immer noch relevante perioperative Sterblichkeit vor, welche hauptsächlich durch kardiale und pulmonale Komorbidität [7,8] verursacht wird. Das anästhesiologische Vorgehen bei operativer Ausschaltung eines Aortenaneurysmas stellt damit nach wie vor eine besondere Herausforderung dar, wobei dem perioperativen Flüssigkeitsmanagement große Bedeutung als Einflussgröße für das Überleben zukommt. Die intravenöse Substitution von Flüssigkeit muss bis zum „Clamping“ der Aorta sehr vorsichtig erfolgen. Als Richtgrößen dienen hier der pulmonalkapilläre Verschlussdruck (PCWP) und das transösophageale Herzecho [9]. Während des Clamping wird üblicherweise das intravenöse Flüssigkeitsvolumen durch Infusion vergrößert und so ein ausreichend hoher PCWP angestrebt, ein Manöver das dem plötzlichen Volumenbedarf nach „Declamping“ der Aorta vorbeugen soll [3]. Das Wiedereröffnen der Aorta wird üblicherweise von einem ausgeprägten Abfall des mittleren arteriellen Druck begleitet, welches im angloamerikanischen Schrifttum als „declamping shock“ bezeichnet wird.

1.2 Pathophysiologie des Ischämie-Reperfusionsschadens

1.2.1 Störungen im Energiehaushalt der Zelle

Der Begriff „Ischämie“ wurde vermutlich 1858 erstmals von Rudolf von Virchow benutzt, um den Effekt eines reduzierten Blutflusses auf Organe zu beschreiben [10]. Ein verminderter Blutfluss beinhaltet immer zwei Aspekte: Erstens eine inadäquate nutritive Versorgung, wobei die eingeschränkte Sauerstoffversorgung hierbei die größte Rolle spielt und zweitens, der verminderte Abtransport von Ionen und (potenziell) toxischen Stoffwechselprodukten. Der aufgehobene aerobe Metabolismus führt zur anaeroben Glykolyse, Azidose des Gewebes, verminderter Bereitstellung von energiereichen Phosphaten und damit zu deren Depletion. Die daraus resultierende Dysfunktion ATP-abhängiger Enzyme beeinflusst Transportsysteme, die zur Aufrechterhaltung von osmotisch-wirksamen Ionengradienten an der Zellmembran notwendig sind. Bereits

frühzeitig kommt es zu einem Einstrom von Na^+ - und Ca^{++} -Ionen mit Anschwellen der Zellen, ein Vorgang der die ohnehin kompromittierte nutritive Gewebeversorgung im Sinne eines Circulus vitiosus durch Abnahme der funktionellen Kapillardichte weiter verschlechtert [11]. Durch Steigerung der Aktivität der zytosolischen 5'-Nukleotidase wird Adenosinmonophosphat (AMP) vermehrt zu Adenosin umgewandelt. Adenosin seinerseits wird zu dem Purinnukleosid Inosin und den Purinen Hypoxanthin und Xanthin weiter abgebaut (s. Abb. 1) [12].

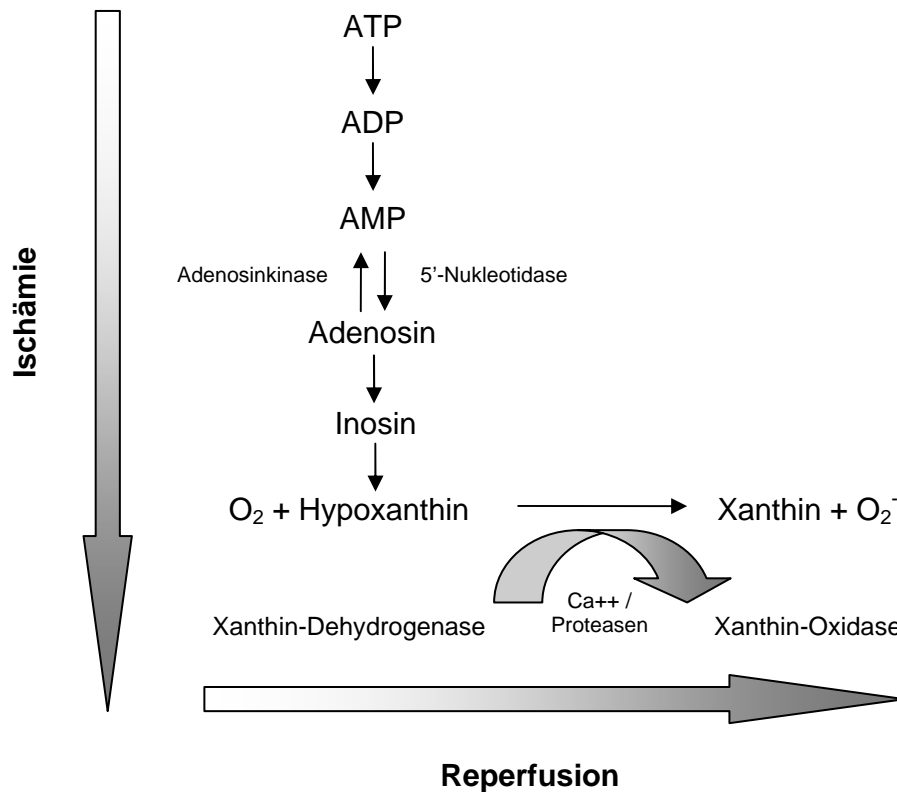


Abbildung 1. Pathobiochemie von Initialmechanismen des Ischämie-Reperfusionsschadens. Während Ischämie erfolgt der Abbau von Adeninnukleotiden zu Adenosin, Inosin und Hypoxanthin sowie die Umwandlung der Xanthindehydrogenase in die Xanthinoxidase. In der Reperfusion wird Sauerstoff wieder verfügbar, der –katalysiert durch die Xanthin-Oxidase– Hypoxanthin zu Xanthin und reagiblen Superoxid-anionen oxidiert. ATP, Adenosin Triphosphat; ADP, Adenosin Diphosphat; AMP, Adenosin Monophosphat

Zugleich laufen während Ischämie biochemische Prozesse ab, die eine Bildung von Sauerstoffradikalen in der Phase der Reperfusion begünstigen. So bewirkt die Akkumulation von Ca^{++} -Ionen im Intrazellularraum während Ischämie nicht nur die Stimulation von Phospholipasen, mit der Folge der Freisetzung toxischer Produkte aus Membranlipiden, sondern in Zusammenwirken mit Proteasen auch eine Umwandlung der Xanthin-Dehydrogenase in ihre isoenzymatische Form Xanthin-Oxidase. Mit Reoxygenierung in der Phase der Reperfusion wird Sauerstoff wieder verfügbar der, katalysiert durch die Xanthin-Oxidase, Hypoxanthin zu Xanthin unter Bildung reagibler Superoxidanionen oxidiert. Die Produktion reaktiver Superoxidanionen in der frühen Phase der Reperfusion steht stellvertretend für ein breites Spektrum durch Radikale vermittelter pathobiochemischer Initialmechanismen, die eine weitere Gewebeschädigung durch eine nachfolgende Inflammation triggern.

1.2.2 Sekundärschäden durch Inflammation

So ist bekannt, dass auf ischämischen und durch Sauerstoffradikale (s.o.) geschädigten Zellen verstärkt Neoantigene präsentiert werden, an die spezifische Antikörper der IgM-Klasse binden. Dies führt zur Adhärenz des Komplementfaktors C1, der weitere Komplementfaktoren (C3a und C3b) aktiviert. Als Folge kommt es zur Konstitution des sog. „MAC“, eines „Membran Angriff Komplexes“, bestehend aus den Faktoren C5b-9, der zu Porenbildung in der Zellmembran, fehlerhafter Signalübertragung und Apoptose führt [13]. Die Aktivierung des Komplementsystems bewirkt eine Reihe weiterer proinflammatorischer Reaktionen wie: i) die verstärkte Expression von Adhäsionsmolekülen auf Endothelzellen und Granulozyten ii) die Aktivierung und Chemotaxis von Leukozyten [14] und iii) die Produktion von Arachidonsäure-Metaboliten sowie Zytokinen und Chemokinen [15].

Die Stimulation zirkulierender polymorphkerniger Leukozyten führt über L-Selektin vermitteltes Rollen am Gefäßendothel („rolling“) und nachfolgender durch β_2 -Intergrine vermittelter Adhäsion („sticking“) [16] schließlich zur weiteren Freisetzung von zytotoxischen Superoxidanionen und proteolytischen Enzymen [17]. Es kann deshalb davon ausgegangen werden, dass ein primärer ischämischer Gewebeschaden während der Reperfusionsphase durch aktivierte PMNL aggraviert wird und dass eine Therapie, die die Zahl vermindert oder die Aktivierung von PMNL verhindert, eben diese Folgen („second hit“) verringern kann [18-22]. Der neutrophile Granulozyt spielt deshalb eine entscheidende Rolle für die Induktion des sekundären Schadens nach Reperfusion bei Operationen an der Aorta [23] und ist mitverantwortlich für die Entwicklung von

Folgekomplikationen, beginnend mit dem Versagen einzelner Organe bis hin zum Multiorganversagen im Rahmen einer systemischen Entzündungsreaktion (SIRS), die die Entstehung von Infektionen und Sepsis begünstigt.

1.3 Das Konzept der *Small Volume Resuscitation*

Seit einigen Jahren hat das Konzept der „Small Volume Resuscitation“ erfolgreichen Einzug in die klinische Praxis gehalten. Die Infusion von hypertoner Kochsalzlösung bzw. einer Kombination aus hypertoner Kochsalzlösung mit einem hyperonkotischen Kolloid hat mittlerweile ein breites Indikationsspektrum, das von der präklinischen Notfallmedizin [24,25], dem Operationssaal [26], der Intensivstation [27], bei Schädel-Hirn-Verletzten [28], bei Kindern [29], bei internistischen Patienten mit Herzinsuffizienz [30] bis hin zur Veterinärmedizin [31] reicht (Übersicht in [32]). Die „Small Volume Resuscitation“ erlaubt eine schnelle Wiederherstellung des intravasalen Volumens [33,34] und ermöglicht nach hämorrhagischem Schock in kurzer Zeit den mittleren arteriellen Druck und das Herzzeitvolumen fast wieder auf Normwerte anzuheben [35-37]. Die Kombination hypertoner Kochsalzlösung mit einer hyperonkotischen Dextran-Komponente scheint dabei den therapeutischen Effekt noch zu verstärken und zeigt eine signifikant verbesserte 30-Tage-Überlebensrate, verglichen mit hypertoner Kochsalzlösung alleine [38]. Auch bei Sepsis und septischen Schock scheint ein Einsatz viel versprechend [39-41]. Christ et al. konnten zeigen, dass der Einsatz von hypertoner Kochsalzlösung kombiniert mit einem (hyperonkotischen) Kolloid zur Prävention des „declamping shock“ sicher ist und die Flüssigkeitsbalance und Hämodynamik verbessert [42].

Obwohl es gute Hinweise auf eine protektive Wirkung der SVR im Sinne einer Prävention des Organversagens nach hämorrhagischem Schock gibt [43], ist der Wirkmechanismus auf zellulärer Ebene nach wie vor nur unvollständig verstanden. Neben der Fähigkeit, Flüssigkeit aus dem geschwollenen Endothel zu mobilisieren, haben intravitalmikroskopische Befunde gezeigt, dass hypertone Kochsalzlösung die Adhäsion von PMNL am Kapillarendothel hemmt, ein Effekt, der besonders stark an postkapillären Venolen ausgeprägt ist [44]. Da die Adhärenz von PMNL mit erhöhtem Flusswiderstand und kapillärer Leckage einhergeht [44], erscheint die SVR geeignet, den Gewebeschaden nach Ischämie-Reperfusion zu verringern. Dies wird unter anderem durch Befunde gestützt, die zeigen, dass die Margination von Neutrophilen sowie deren intraalveoläre Sequestration unter Therapie mit SVR verhindert werden kann [45-47].

Vor diesem Hintergrund, dass Operationen eines abdominellen Aortenaneurysmas in der Phase der Ischämie primär zu Störungen im Energiestoffwechsel führen, deren Folgen in der Reperfusion durch inflammatorische Reaktionen sekundär verstärkt werden können, haben wir uns folgende Fragen gestellt:

2. FRAGESTELLUNG

Kommt es bei Patienten mit Ausschaltung eines infrarenalen Bauch-aortenaneurysmas zu einer metabolisch fassbaren Ischämie-Reperfusionreaktion ?

Welcher Metabolit des Energiestoffwechsels zeigt die größte Veränderung ?

Bewirkt Ischämie-Reperfusion bei diesen Patienten eine Aktivierung polymorph-kerniger Granulozyten ?

Kann die Ischämie-Reperfusion bedingte Aktivierung der PMNL durch Applikation von hypertoner, hyperonkotischer Kochsalz-Dextran-Lösung (HSD) supprimiert werden ?

Welchen Einfluss hat die Therapie mit HSD-Lösung auf die postoperative inflammatorische Reaktion ?

3. METHODIK UND MATERIAL

3.1 Methodik

3.1.1 Studienprotokoll

Im Rahmen einer prospektiv randomisierten, offenen, verumkontrollierten Studie der Phase zwei wurden jeweils 7 Patienten entweder RescueFlow® („HSD“) nach Promit®-Injektion oder HAES-steril® („HAES“) während der operativen Ausschaltung eines abdominalen Aortenaneurysmas infundiert (Ein- bzw. Ausschlusskriterien: siehe Tabelle 1). Die Studie wurde durch die Ethik-Kommission genehmigt und erfolgte nach umfassender Aufklärung und schriftlicher Einwilligung der Patienten nach den EG-GCP-Richtlinien im Zeitraum März 1999 bis August 2001. Zur perioperativen Flüssigkeitssubstitution durften bis zum Zeitpunkt des infrarenalen Abklemmens der Aorta lediglich kristalloide Lösungen, Fresh Frozen Plasma und Erythrozytenkonzentrate verabreicht werden. Die Prüf (HSD) - oder Kontrollsubstanz (HAES) wurde während des Clamping verabreicht, wobei nach Infusion ein PCWP von 15 – 18 mmHg angestrebt wurde. Nach Declamping war in Abhängigkeit vom PCWP neben kristalloiden Lösungen eine zusätzliche Infusion von maximal 500 ml künstlichem Kolloid möglich (analoges Präparat zum zuvor Verabfolgten). Vor Ende der Operation wurde ein PCWP von 10 – 15 mmHg angestrebt.

Einschlusskriterien

- Männliche und weibliche Patienten nach vollendeten 18 Lebensjahren
- Elektive Operationen von infrarenalen Bauchaortenaneurysmen
- Schriftliches Einverständnis zur Studienteilnahme nach Aufklärung

Ausschlusskriterien

- Nicht geschäftsfähige Patienten
- Schwangere
- ASA 4
- Herzinsuffizienz Grad IV NYHA
- Bekannter Alkohol-, Drogen- oder Medikamentenabusus
- Hämorrhagische Diathese
- Kompensierte Niereninsuffizienz (Serum-Kreatinin > 2,0 mg/dl)
- Apoplektischer Insult in den letzten 6 Monaten
- Patienten mit einer bekannten Überempfindlichkeit gegenüber Hydroxyethylstärke oder Dextran
- Patienten, die in den letzten vier Wochen oder gleichzeitig mit dieser Studie an einer anderen klinischen Prüfung mit einem zugelassenen oder nicht zugelassenen Medikament teilnehmen oder teilgenommen haben.

Ausschluss nach Aufnahme in die Prüfung

- Widerruf der Einverständniserklärung durch Patienten bzw. deren gesetzliche Vertreter
- Anzeichen einer akuten kardialen Ischämie vor Infusion der Prüflösungen (pathologische EKG-Veränderungen)
- Akutes Linksherzversagen vor Infusion der Prüflösung, definiert als PCWP > 18 mmHg oder Herzzeitvolumenindex HI < 2,2 l pro min und m² Körperoberfläche
- Umstände, die zu Abweichungen vom Prüfprotokoll führen, wie unerwünschte Ereignisse oder Begleiterkrankungen, die die Gesundheit des Patienten gefährden und die weitere Teilnahme ausschließen
- Nichteinhalten des Prüfplans, wobei kleinere Verstöße (z.B. Infusion über 22 statt 20 Minuten) toleriert werden

Tabelle 1. Ein- und Ausschlusskriterien

3.1.2 Messzeitpunkte, Probenentnahmen

Blutentnahmen erfolgten zu neun verschiedenen Zeitpunkten (Abbildung 2).

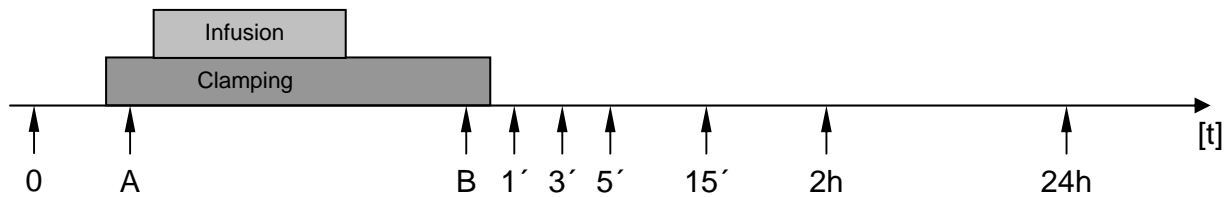


Abbildung 2. Zeitpunkte der Blutentnahme bzw. hämodynamischer Messungen. 0: Nach Freigabe durch Anästhesie und vor Schnitt. A: Nach Clamping und vor Beginn der Infusion der Prüf- bzw. Kontrolllösungen. B: Nach Ende der Infusion und vor Reperfusion. Weitere Zeitpunkte in Minuten bzw. Stunden nach Reperfusion.

3.1.3 Bestimmung der Plasmaosmolalität

Die Plasmaosmolalität wurde durch Messung der Gefrierpunktniedrigung mit einem Osmometer bestimmt (Advanced Osmometer®).

3.1.4 Intraoperatives hämodynamisches Monitoring und Volumenbilanz

Folgende hämodynamischen Parameter wurden intraoperativ erfasst und dokumentiert:

- Herzfrequenz (HF)
- Mittlerer arterieller Druck (MAP)
- Zentralvenöser Druck (CVP)
- Pulmonalkapillärer Verschlussdruck (PCWP)
- Herzzeitvolumen (HZV) und Herzindex (HI)

Hierzu wurde zusätzlich zum intraoperativen Standardmonitoring (EKG, Plethysmographie, endtidales CO₂, etc.) die Arteria radialis kanüliert, ein zentralvenöser Venenkatheter gelegt und ein Pulmonalarterienkatheter (Swan-Ganz-Katheter) eingeschwenkt. Die Dokumentation der Werte erfolgte zu den einzelnen Messzeitpunkten durch den zuständigen Anästhesisten.

Die Volumenbilanz, d.h. die Differenz aus Flüssigkeitszufuhr und –verlust, wurde für zwei Zeitintervalle bestimmt: Von Narkoseeinleitung bis zum Ende des Eingriffs („intraoperative Bilanz“) und vom Ende des Eingriffs bis um 6:00 Uhr am Morgen des folgenden Tages („postoperative Bilanz“).

3.1.5 Parameter der Ischämie

Um das Ausmaß einer Ischämie bedingten Gewebehypoxie erfassen zu können, wurden die Plasmakonzentrationen von Adenosin sowie dessen Abbauprodukte Inosin und Hypoxanthin gemessen. Diese Purine sind, wie aus vielen Voruntersuchungen [48] hervorgeht, sensitive Indikatoren eines vermehrten Abbaus der Adeninnukleotide (ATP, ADP, AMP) bei Zuständen, in denen der Sauerstoffbedarf nicht mehr über eine ausreichende Zufuhr gedeckt wird. Um die Plasmakonzentrationen von Adenosin, Inosin, Xanthin und Hypoxanthin zu bestimmen, wurden Blutproben (2ml) in mit eiskalter „Stopplösung“ gefüllten Spritzen abgezogen (s.a. 3.2.1). Diese Lösung verhindert den Verlust von Adenosin im Plasma durch Hemmung des Abbaus und der Adenosin-Wiederaufnahme in Zellen. Eine Blockade der 5'-Ekto-Nucleotidase und unspezifischen Phosphatasen hemmt hierbei zusätzlich die Bildung von Purinen aus Adeninnukleotiden. Die Proben wurden für 5 min bei 600 x g zentrifugiert, der Überstand abgehoben und durch Denaturierung der Proteine mit Perchlorsäure (70 %) bei -80°C bis zur Messung konserviert.

Die Inosin- und Adenosinkonzentrationen (nM) wurden durch „reversed phase high performance liquid chromatography“ HPLC bestimmt, unter Anwendung eines modifizierten Protokolls, welches zuerst von Ontyd et al. beschrieben wurde [49].

Die Purinbasen Hypoxanthin und Xanthin wurden ebenfalls hochdruckflüssigkeitschromatographisch gemessen [50].

Die Interassaypräzision der o.g. Methoden betrug für Adenosin ca. 10 %, für Inosin ca. 5 % und für Hypoxanthin ca. 5 %. Die Sensitivität lag für die einzelnen Substanzen bei ca. 2-5 pmol pro Injektion.

3.1.6 Laktat, pH, BE

Zur Bestimmung des pH-Wertes, des Basenüberschusses (BE), sowie des Laktats im Plasma diente ein Blutgas-Analysegerät (Radiometer ABL 700). Die Konzentration von Laktat im Plasma wurde amperimetrisch in einem anhand der von der Laktatoxidase katalysierten Oxidationsreaktion ermittelt.

3.1.7 Zellzahlen, Interleukin 6 und 8

Mitarbeiter des Instituts für Klinische Chemie des Klinikums der Universität fertigten für die einzelnen Messzeitpunkte ein Differenzial-Blutbild an (maschinelle Auszählung) und bestimmten die Konzentrationen von Interleukin 6 und 8 im Plasma mittels ELISA.

3.1.8 Parameter der Aktivierung von PMNL

3.1.8.1 Expression von β_2 -Integrinen und L-Selektin

Die Expression von β_2 -Integrinen und L-Selektinen auf polymorphkernigen Leukozyten wurde mittels Durchflusszytometrie bestimmt, nachdem die Zellen mit Fluorochromgekoppelten Antikörpern im Vollblut markiert wurden. Hierzu wurde heparinisiertes Blut (Heparin 10 IU/ml) mit eisgekühlter Ca^{++} -haltiger HBSS-Lösung zweimal gewaschen und auf den Ausgangshämatokrit resuspendiert. Für die Messung der Adhäsionsmoleküle wurden jeweils 20 μl der Zellsuspension mit 20 μl Fluoreszeinisothiozyanat (FITC) markierten monoklonalen Antikörpern IB4 (IgG2a, Endkonzentration 2,5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) oder Dreg200 (IgG2a, Endkonzentration 2,5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) für 20 Minuten inkubiert. Dreg 200 bindet spezifisch an humane L-Selektinmoleküle (CD62L) und IB4 bindet spezifisch an die β_2 -Kette (CD18) humaner β_2 -Integrine. Von einer spezifischen Bindung der Antikörper wurde ausgegangen, wenn das Fluoreszenzsignal einer markierten Zelle größer als der Schwellenwert des Fluoreszenzsignals war, unter welchem 99 % aller Werte bei unspezifischer Bindung lagen. Die unspezifische Bindung des jeweiligen Antikörpers wurde durch konzentrationsabhängige Titration der Fluoreszenz nach Blockade der spezifischen Bindung mit einer jeweils 50fach höheren Konzentration nicht-markierten Antikörpers ermittelt. Die oben angegebenen Endkonzentrationen der Antikörper entsprechen zweifach sättigenden Konzentrationen.

Nach Inkubation der Zellsuspensionen mit den entsprechenden Antikörpern wurden die nicht gebundenen Antikörper durch Waschen mit eisgekühlter HBSS-Lösung entfernt und die Erythrozyten mit FACS-Lysing Solution nach Herstellerangaben lysiert.

Die durchflusszytometrische Analyse erfolgte mit einem Becton-Dickinson FACScan (Argonlaser, 15mW, Erregerwellenlänge 488nm). Leukozyten, Lymphozyten und polymorphkernige Leukozyten wurden anhand der Vorwärts- und Seitwärts-Lichtstreuung identifiziert. „Linear list mode data“ wurden für 5000 „events“ pro Probe

gesammelt und mit FACScan Software die mittlere Fluoreszenzintensität als relative Einheiten („channel FL1“, 530 nm) auf einen Verstärkungsfaktor von 1 berechnet.

3.1.8.2 Superoxidanionenproduktion von Phagozyten im Vollblut

Die Produktion von Superoxidanionen O_2^- im Blut wurde, wie früher beschrieben [51], durch photometrische Messung der Reduktion von Cytochrom C gemessen, welche entweder spontan erfolgte oder nach Stimulation mit dem chemotaktischen Peptid fMLP (N-formyl-Methionin-Leucin-Phenylalanin, 10^{-6} mol/l) induziert wurde. Ein Milliliter Vollblut wurde in vier Plastik-Röhrchen aliquotiert, welche jeweils mit 1,4 ml HBSS, Cytochrom C (0,625 mg/ml) und Cytochalasin B (2,5 μ g/ml) gefüllt und auf 37°C erwärmt waren. Die vier Röhrchen enthielten zusätzlich folgende Bestandteile:

- 1) keine Zusätze
- 2) fMLP
- 3) fMLP und SOD (Superoxid Dismutase, 50 U/ml)
- 4) SOD

Die Reaktionsgefäße wurden 15 min bei 37°C inkubiert, anschließend erfolgte bei 0°C die Abtrennung der zellulären Bestandteile durch Zentrifugation (5 min, 600 x g). Im folgenden Schritt wurden die einzelnen zellfreien Reaktionsvolumina in eine Mikrotiterplatte übertragen und die jeweilige Absorption mit einem Photometer (bei 550 nm, mit 630 nm Interferenzfilter) dreifach gemessen.

Wie bereits von Markert et al [52] beschrieben, kann aus den jeweiligen Differenzen der Absorption der Reaktionsgefäße 2 minus 3 und 1 minus 4, die stimulierte bzw. die spontane Produktion von O_2^- errechnet werden.

3.1.8.3 Änderung des Zellvolumens

Parallel zur Durchführung der Studie erfolgte die Erarbeitung und Implementierung einer Methode zur Bestimmung des Volumens von polymorphkernigen Granulozyten. Erste Versuche erfolgten mit Hilfe eines automatischen Blutzellenzählgerätes (Coulter Counter Multisizer II):

Um zu überprüfen, ob es möglich ist, das Zellvolumen von PMNL im Vollblut chemisch zu fixieren, wurden mehrere Versuchsreihen durchgeführt. PMNL gesunder, freiwilliger Spender wurden mittels Dextran-Separation und Ficoll-Dichtezentrifugation isoliert. Die so gewonnenen Zellen dienten zur Überprüfung, ob das gewählte Verfahren später im Vollblut zu einer Fixierung des Zellvolumens geeignet war: Die Zellen wurden in Kochsalzlösungen unterschiedlicher Osmolalität (z.B. 250, 275, 300, 375, 400, 425, und 450 mosmol/kg) inkubiert und das Zellvolumen im Coulter Counter bestimmt, wobei

regelmäßig beobachtet werden konnte, dass die Zellen auf den osmotischen Stress bei unterschiedlichen NaCl-Konzentrationen mit einer Änderung des Zellvolumens reagierten. Anschließend wurden die Zellen dem jeweiligen zu prüfenden Agens ausgesetzt:

Saponin und BD-Lysereagens (unter der Vorstellung, die Erythrozyten zu lysieren und damit sofort eine Messung durchführen zu können)

Glutaraldehyd (zur Denaturierung von Zellproteinen und damit zur Aufhebung der Regulation des Zellvolumens)

Amilorid, in Kombination mit Bumetanid oder Glutaraldehyd (wie z.B. von Krump beschrieben [53], um durch Blockade der Ionenkanäle ein Clamping der Granulozyten-Zellmembran zu erreichen).

Nach Resuspension in physiologischer Kochsalzlösung erfolgte die erneute Bestimmung des Volumens im Coulter Counter. Leider zeigte sich auch bei wiederholter Durchführung der Versuche, dass keine der Substanzen oder deren Kombination in der Lage war, das Zellvolumen reproduzierbar zu fixieren.

Eine weitere Versuchsreihe wurde am Durchflusszytometer (Becton-Dickinson FACScan, Argonlaser, 15mW) durchgeführt unter der Vorstellung, dass das Zellvolumen durch Kalibration der Vorwärtslichtstreuung mit PMNL bekannten Volumens (vorherige Messung am Coulter Counter) bestimmt werden kann.

Um die PMNL-Fraktion trotz der Anwesenheit von Erythrozyten messen zu können, wurde Vollblut mit der 40fachen, durch Zentrifugation gewonnenen autologen Plasmamenge verdünnt und anschließend mit dem interkalierenden DNS-Farbstoff LDS 751 (Molecular Probes) versetzt. Anschließend erfolgte die Messung im Durchflusszytometer, wobei die Einstellung des Schwellenwerts zur Messung auf dem Fluoreszenzkanal 3 (FL3) so erfolgte, dass nur kernhaltige Zellen, die rot fluoreszierten, gemessen wurden. Leukozyten, Lymphozyten und polymorphkernige Granulozyten wurden anhand der Vorwärts- und Seitwärts-Lichtstreuung identifiziert. Mit Hilfe isolierter und auf ein bestimmtes Volumen eingestellter PMNL-Fraktionen wurde eine Kalibrationskurve ermittelt.

Es ergab sich folgende Korrelation zwischen dem am Coulter Counter gemessenen Zellvolumen und der durchflusszytometrisch bestimmten Vorwärtslichtstreuung (Forwardscatter, FSC): $\text{Zellvolumen [fl]} = \text{FSC} \times 0,246 + 222,2$. $N = 15$; $r = 0,955$ und $p = 0,0001$ (Korrelationskoeffizient nach der Methode von Pearson) [54].

Die Inkubation von isolierten PMNL mit LDS 751 zeigte, dass der Farbstoff keinen Einfluss auf die Volumenregulation hatte. Messungen innerhalb einer Stunde nach Isolation am Coulter Multisizer ergaben durchwegs stabile Werte, erst danach kam es zu

Veränderungen in der Vorwärtslichtstreuung aufgrund einer dann einsetzenden Volumenregulation der Zellen.

3.1.9 Statistik

Die Daten wurden mit Hilfe handelsüblicher Software (SPSS Version 11, SPSS-Software, Jandel Scientific, Erkrath, Deutschland) analysiert. Die Darstellung erfolgte mit dem Graphikprogramm Sigma-Plot (Version 8.0, Jandel Scientific, Erkrath, Deutschland). Die Prüfung auf Vorliegen einer Normalverteilung wurde mit dem Einstichprobentest nach Kolmogorov-Smirnov durchgeführt. Da die meisten untersuchten Parameter nicht normal verteilt waren, erfolgte die Prüfung auf signifikante Unterschiede zwischen unverbundenen Stichproben mit dem Mann-Whitney-Test und zwischen verbundenen Stichproben mit dem Wilcoxon-Test. Das Signifikanzniveau wurde für einen α -Fehler von $p < 0,05$ festgelegt. Die Messwerte der Variablen sind als Mittelwerte und Standardfehler angegeben. Für die im Abschnitt 4.1.2 angegebenen Daten erfolgte eine zusätzliche Auswertung durch und in Zusammenarbeit mit Pharmalog, Institut für Klinische Forschung, München.

3.2 Material

3.2.1 Reagenzien

Lösungen für die intravasale Volumensubstitution:

RescueFlow[®] (6 % Dextran 70 (mittleres MG 70.000 D) in 7,5 % NaCl Lösung, Osmolalität 2400 mosmol/kg), Biophausia, Uppsala, Schweden

HAES-steril[®] 6 % BP (O-2-Hydroxy-aethyl-Stärke, mittleres MG 200.000 D, Substitutionsgrad 0,4 - 0,55 = HAES 200/0,5 in 0,9 % NaCl, Osmolalität 308 mosmol/kg), Fresenius Kabi GmbH, Bad Homburg

Promit[®] (3g Dextran 1 in 20ml 0,9 % NaCl), Pharmalink AB, Isernhagen

Substanzen für die Entnahme und Konservierung von Blutproben und für die Bestimmung metabolischer Parameter

Stopplösung für die Messung von Purinen:

Dipyridamol $2 \times 10^{-4} \text{M}$, EHNA $2 \times 10^{-5} \text{M}$, EDTA $2 \times 10^{-2} \text{M}$, EGTA $2 \times 10^{-2} \text{M}$, D-L-alpha-Glycerophosphat $2 \times 10^{-2} \text{M}$ in physiologischer Kochsalzlösung, pH 7,40

Reagenzien für die Bestimmung der Adhäsionsmolekülexpression, der Superoxid-anionenproduktion und des Zellvolumens polymorphkerniger Leukozyten

Vetren Heparin, Promonta GmbH, Hamburg, Deutschland

HBSS (Hank's buffered salt solution), Apotheke des Klinikums der Universität München

Dreg200 und IB4, monoklonale Antikörper, Experimental Medicine Incorporation, New Jersey, Princeton, USA

FACS Lysing Solution, Becton-Dickinson, Heidelberg, Deutschland

Cytochrom C, Sigma, Deisenhofen, Deutschland

Cytochalasin B, Sigma, Deisenhofen, Deutschland

fMLP, Sigma, Deisenhofen, Deutschland

Superoxiddismutase, Sigma, Deisenhofen, Deutschland

LDS 751, Molecular Probes, San Diego, CA, USA

Ficoll Histopaque-1077, Sigma, Deisenhofen, Deutschland

Saponin, Fluka / Sigma, Deisenhofen, Deutschland

Amilorid, Sigma, Deisenhofen, Deutschland

Bumetanid, Sigma, Deisenhofen, Deutschland

Glutaraldehyd, Sigma, Deisenhofen, Deutschland

Dipyridamol, Sigma, Deisenhofen, Deutschland

Reagenzien für die Bestimmung der Purine

EHNA, Sigma, Deisenhofen, Deutschland

EDTA, Sigma, Deisenhofen, Deutschland

EGTA, Sigma, Deisenhofen, Deutschland

alpha-Glycerophosphat, Sigma, Deisenhofen, Deutschland

3.2.2 Geräte

Laborzentrifuge, Biofuge, Heraeus, Hanau, Deutschland

FACScan, Becton-Dickinson, Heidelberg, Deutschland

HPLC, Waters Millipore, Eschborn, Deutschland

Cygnetic fraction sampler, Isco, Lincoln, NE, USA

Coulter Counter Multisizer II, Coulter, Krefeld, Deutschland

Photometer Dynatec MRX 7000, Dynatec Laboratories Inc, Alexandria, VA, USA

Blutgasanalysegerät Radiometer ABL700, Radiometer, Willich, Deutschland

Advanced Osmometer, Advanced Industries, Norwood, MA, USA

3.2.3 Software

SPSS Version 11, SPSS-Software, Jandel Scientific, Erkrath, Deutschland

Sigma Plot, Version 8.0, SPSS-Software, Jandel Scientific, Erkrath, Deutschland

MS Office Word, Microsoft Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland

Lotus Endnote, ISI ResearchSoft, Berkeley, CA, USA

4. ERGEBNISSE

4.1 Klinische Parameter

4.1.1 Abklemmzeit, Studienpopulation

Die Abklemmzeiten (HAES $38,5 \pm 5,7$ min, HSD $32,6 \pm 3,8$ min) waren in beiden Gruppen vergleichbar und aufgrund des schnellen operativen Vorgehens entsprechend kurz. Die Patienten, welchen HSD infundiert wurde (vier männlich, drei weiblich), waren durchschnittlich $67,6 \pm 13,6$ Jahre alt, hatten ein Körpergewicht von $75,4 \pm 18,4$ kg und eine Größe von $167,0 \pm 8,7$ cm. Die Patienten, die HAES erhielten (sechs männlich, eine weiblich) waren $69,9 \pm 4,0$ Jahre alt und wogen $76,9 \pm 11,0$ kg bei einer Körpergröße von $170,9 \pm 6,0$ cm.

4.1.2 Intraoperative Hämodynamik und Volumenstatus

Beide Patientengruppen unterschieden sich hinsichtlich der hämodynamischen Parameter im gesamten Beobachtungszeitraum nicht. Innerhalb der jeweiligen Gruppe kam es zu keiner signifikanten Veränderung der Herzfrequenz (Tabelle 2) oder des mittleren arteriellen Blutdrucks. Ein Abfall des arteriellen Blutdrucks im Sinne eines „declamping shock“ wurde nach dem Wiedereröffnen der Aorta nicht beobachtet (Tabelle 3). Der Herzindex, d.h. das auf die Körperoberfläche bezogene Herzzeitvolumen, stieg infolge der Infusion der Volumenersatzmittel noch vor Reperfusion in beiden Gruppen signifikant an (Tabelle 4).

	0	A	B	5'
HSD	68,7 ($\pm 20,4$)	67,4 ($\pm 10,3$)	73,3 ($\pm 11,2$)	76,7 ($\pm 10,1$)
HAES	60,7 ($\pm 9,8$)	68,8 ($\pm 11,2$)	70,5 ($\pm 13,4$)	75,6 ($\pm 16,4$)

Tabelle 2. Herzfrequenz (min^{-1}). MW \pm SE, n = 7 pro Gruppe

	0	A	B	5'
HSD	79,7 (±10,2)	81,8 (±14,8)	79,6 (±15,0)	82,5 (±10,7)
HAES	78,6 (±11,5)	73,7 (±10,1)	84,8 (±11,8)	82,0 (±12,2)

Tabelle 3. MAP (mmHg). MW ± SE, n = 7 pro Gruppe

	0	A	B	5'
HSD	3,0 (±0,7)	3,1 (±0,8)	*#4,4 (±1,1)	*#4,7 (±0,9)
HAES	2,9 (±0,8)	3,0 (±0,6)	*#4,2 (±0,8)	*#4,6 (±0,7)

Tabelle 4. HI (Herzindex, l/min/m²). MW ± SE, n = 7 pro Gruppe,

* p < 0,05 vs Zeitpunkt 0, # p < 0,05 vs Zeitpunkt A

Parallel dazu nahmen sowohl der ZVD als auch der pulmonalkapilläre Verschlussdruck (PCWP) innerhalb der beiden Gruppen signifikant zu (Tabelle 5 und 6).

	0	A	B	5'
HSD	9,0 (±3,1)	9,1 (±4,8)	*#14,2 (±4,0)	*#14,0 (±4,1)
HAES	9,8 (±3,0)	10,7 (±4,3)	*#15,9 (±4,3)	*#16,4 (±4,5)

Tabelle 5. CVP (mmHg). MW ± SE, n = 7 pro Gruppe, * p < 0,05 vs Zeitpunkt 0, # p < 0,05 vs Zeitpunkt A

	0	A	B	5'
HSD	10,4 (±2,1)	9,8 (±4,5)	*#16,4 (±3,3)	*#15,9 (±4,5)
HAES	10,1 (±3,0)	8,9 (±5,0)	*#16,4 (±3,7)	*#17,9 (±4,1)

Tabelle 6. PCWP (mmHg). MW ± SE, n = 7 pro Gruppe, * p < 0,05 vs Zeitpunkt 0 ,

p < 0,05 vs Zeitpunkt A

Bei der Auswertung der intraoperativen Flüssigkeitsbilanz ergab sich eine signifikant geringere Zufuhr in der HSD-Gruppe. HSD: + 4148 ml (± 1513 ml) vs. HAES: + 5300 ml (± 1075 ml), p < 0,05. Der postoperative Flüssigkeitsbedarf, der in den beiden Gruppen um sechs Uhr am nächsten Morgen bestimmt wurde, zeigte jedoch keinen signifikanten Unterschied mehr zwischen den Patienten, die HAES oder HSD erhalten hatten: HSD: + 984 ml (± 1103 ml) vs. HAES: + 780 ml (± 1597 ml).

4.1.3 Osmolalität

Wie erwartet, bewirkte die Infusion der Dextranlösung in 7,5 % NaCl mit einer theoretischen Osmolalität von 2400 mosmol/kg, einen signifikanten Anstieg der Plasmaosmolalität bis in die postoperative Phase. Im Vergleich zur HAES-Kontroll-Gruppe ergaben sich signifikant höhere Messwerte zum Zeitpunkt B und 15', sowie in der Tendenz bis zu zwei Stunden nach Infusion von HSD.

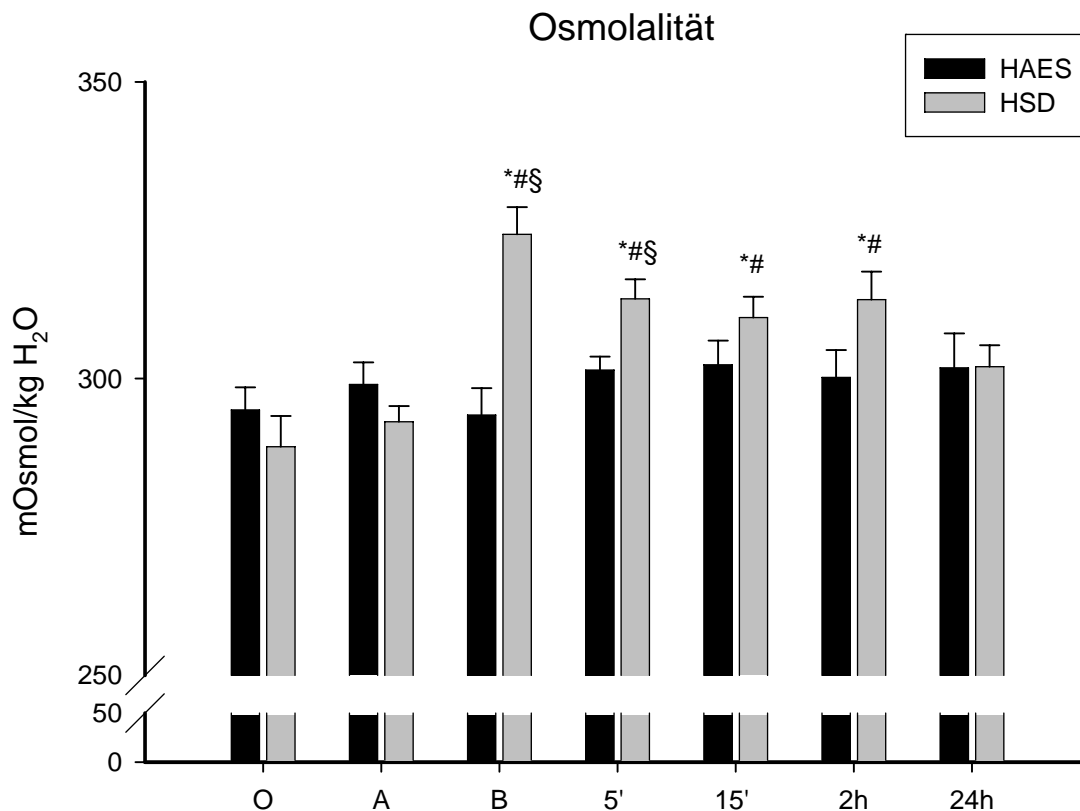


Abbildung 3. Osmolalität im Plasma. MW ± SE, n = 7 pro Gruppe, * p < 0,05 vs Zeitpunkt 0, # p < 0,05 vs Zeitpunkt A, § p < 0,05 HSD vs HAES

4.2 Parameter des Energiestoffwechsels

4.2.1 Purine

Die Plasmakonzentrationen der verschiedenen Produkte des Purinstoffwechsels Adenosin, Inosin, Hypoxanthin und Xanthin wurden im arteriellen Blut gemessen. Während sich für Adenosin keine Veränderungen ergaben (s. Tabelle 7), zeigte sich in beiden Gruppen ein signifikanter Anstieg des Inosins und des Hypoxanthins in der Phase der Reperfusion. In der HSD-Gruppe erreichten die postreperfusionellen Konzentrationen von Hypoxanthin und Xanthin tendenziell höhere Werte als in der HAES-Gruppe. Signifikant höhere Xanthin-Werte ergaben sich in der HSD- gegenüber der HAES-Gruppe 24 Stunden nach der Operation (Abbildung 4).

	0	A	B	1'	3'	5'	15'	1h	24h
HAES	87,11 ±19,22	66,64 ±16,15	*63,81± 12,63	85,55 ±17,24	87,97 ±20,15	80,07 ±14,50	71,03 ±13,98	81,75 ±14,54	76,99 ±14,82
HSD	71,24 ±9,91	46,32 ±8,32	57,68 ±11,64	57,72 ±14,61	62,91 ±15,21	63,62 ±16,25	63,36 ±12,50	65,48 ±15,19	61,05 ±4,14

Tabelle 7. Adenosinplasmakonzentration (nmol/l). MW ± SE, n = 7 pro Gruppe, * p < 0,05 vs Zeitpunkt 0

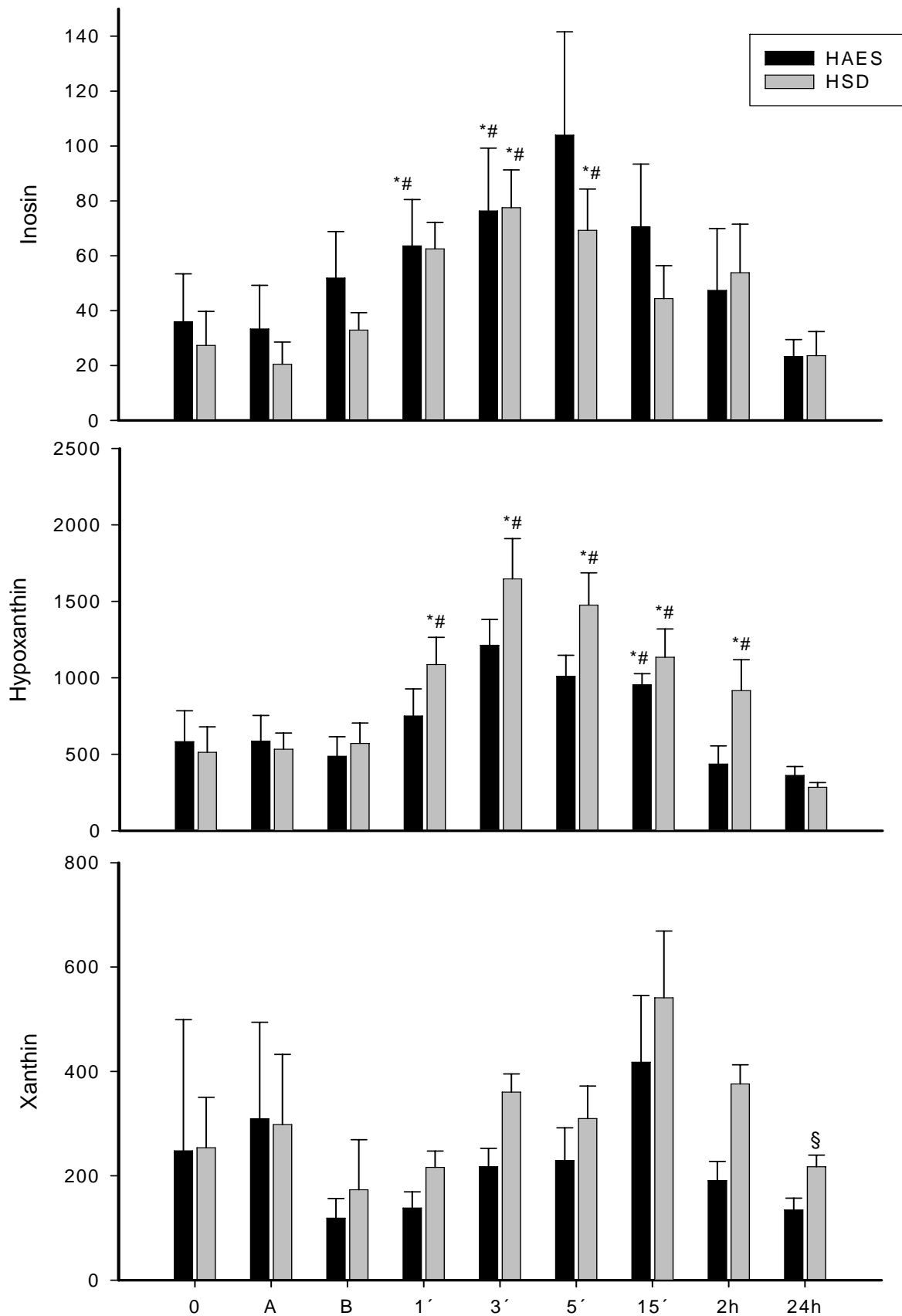


Abbildung 4. Inosin-, Hypoxanthin- und Xanthinplasmakonzentrationen (nmol/l). MW \pm SE, n = 7 pro Gruppe, * p < 0,05 vs Zeitpunkt 0, # p < 0,05 vs Zeitpunkt A, § p < 0,05 HSD vs HAES

4.2.2 Laktat und Säure-Basen-Haushalt

Nach Abklemmen der Aorta nahm die arterielle Laktatkonzentration in beiden Gruppen zunächst ab, wobei nur bei den Patienten, die HAES erhielten das Signifikanzniveau im Vergleich zu den Zeitpunkten 0 und B erreicht wurde. Obwohl die Laktatkonzentration während des aortalen Clamping paradoxerweise absank, wurden die metabolischen Folgen der Ischämie durch die Erniedrigung des arteriellen pH-Wertes und den Anstieg des negativen Basenüberschusses (BE) offensichtlich. Dies zeigte sich interessanterweise bereits zum Zeitpunkt B, d.h. bevor es zur Wiedereröffnung der zuvor verschlossenen Gefäßstrombahn kam. Mit Reperfusion kehrte in beiden Gruppen die Plasmalaktatkonzentration und der pH in den Bereich der Ausgangswerte zurück, während der negative BE mit Ausnahme in der HSD Gruppe bis zu 2 h erhöht blieb. In der HSD Gruppe war 15 Minuten nach Öffnen der Aortenklemme der negative BE im Vergleich zur HAES-Gruppe signifikant höher (Abbildung 5).

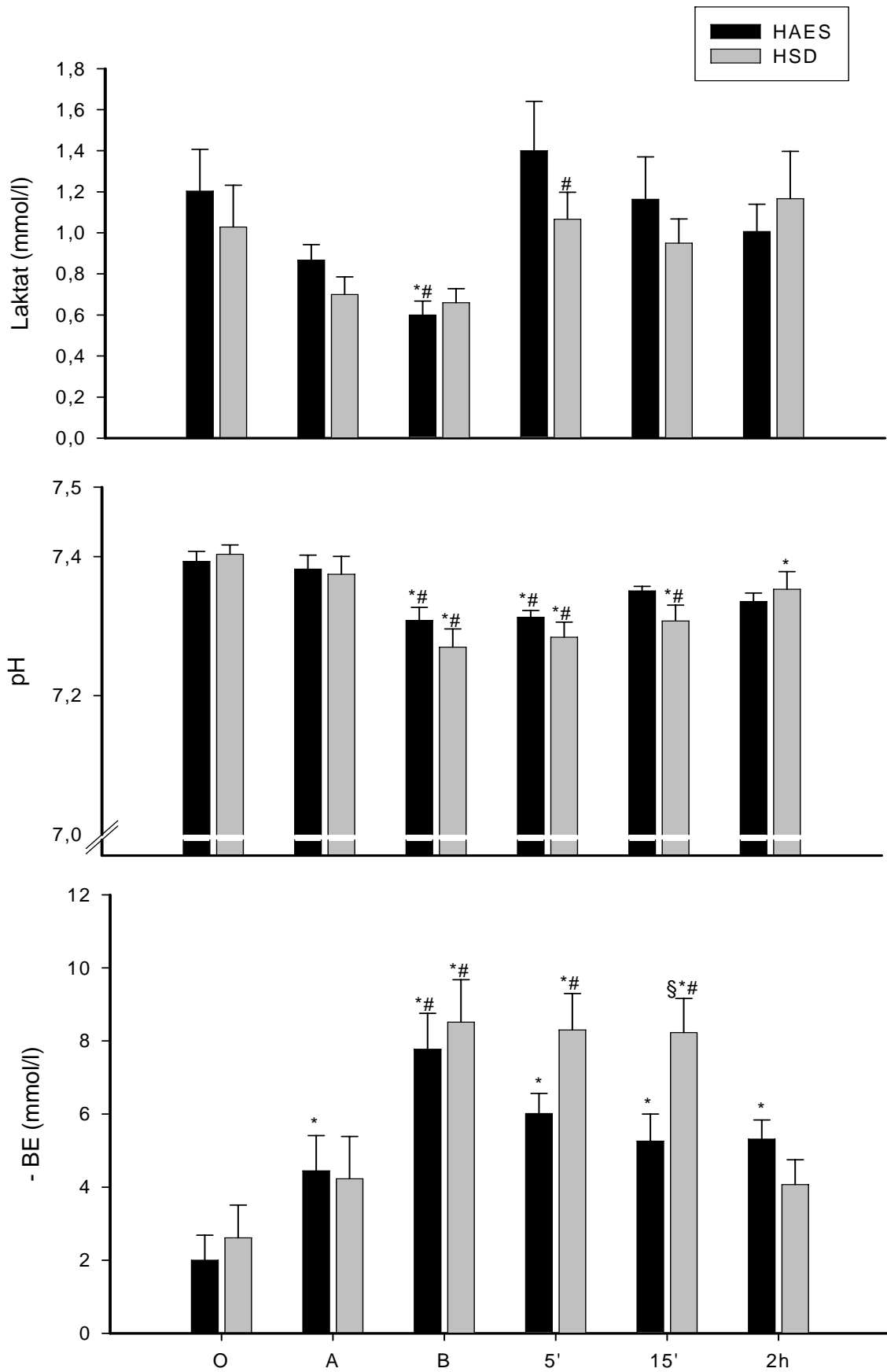


Abbildung 5. Laktat, pH und BE. MW \pm SE, n = 7 pro Gruppe, * p < 0,05 vs Zeitpunkt 0, # p < 0,05 vs Zeitpunkt A, § p < 0,05 HSD vs HAES

4.3 Parameter der Inflammation

4.3.1 Zellzahlen

Die Konzentration der Leukozyten im Blut nahm, bedingt durch die Entwicklung einer Granulozytose, bereits 1 h nach Reperfusion signifikant zu und stieg bis zu 24 h nach der Operation weiter an (Tabelle 8 und 9). Bemerkenswert ist eine signifikant höhere Anzahl von Lymphozyten nach Infusion von hypertoner, hyperonkotischer Dextranlösung in der HSD-Gruppe (Tabelle 10), wobei die Lymphozytenzahlen insgesamt in beiden Gruppen nur geringe Veränderungen zeigten.

	0	A	B	5'	15'	2h	24h
HAES	6457 ±779	4986 ±544	5443 ±796	6671 ±1006	6743 ±950	#7743 ±726	#8929 ±691
HSD	7543 ±465	5829 ±349	5471 ±529	6314 ±460	6300 ±541	#8814 ±773	*#9783 ±764

Tabelle 8. Leukozytenzahlen. MW ± SE, n = 7 pro Gruppe, * p < 0,05 vs Zeitpunkt 0, # p < 0,05 vs Zeitpunkt A

	0	A	B	5'	15'	2h	24h
HAES	4529 ±749	3434 ±555	4132 ±836	5107 ±1035	#5261 ±893	*#6393 ±603	*#7259 ±608
HSD	5054 ±444	3839 ±241	3250 ±321	4039 ±334	#4476 ±414	*#7080 ±668	*#8436 ±818

Tabelle 9. PMNL-Zahlen. MW ± SE, n = 7 pro Gruppe, * p < 0,05 vs Zeitpunkt 0, # p < 0,05 vs Zeitpunkt A

	0	A	B	5'	15'	2h	24h
HAES	1288 ±206	961 ±139	830 ±145	1065 ±262	982 ±224	743 ±152	916 ±150
HSD	1651 ±281	1246 ±163	[§] 1586 ±256	1703 ±331	1155 ±131	1013 ±90	833 ±192

Tabelle 10. Lymphozytenzahlen. MW ± SE, n = 7 pro Gruppe, * p < 0,05 vs Zeitpunkt 0, # p < 0,05 vs Zeitpunkt A, § p < 0,05 HSD vs HAES

4.3.2 Adhäsionsmoleküle

Als Ausdruck einer Aktivierung zirkulierender Granulozyten war die numerische Expression von β_2 -Integrinen auf PMNL tendenziell in der Kontroll-HAES-Gruppe im zeitlichen Verlauf und auch im Vergleich zur Verum-HSD-Gruppe gesteigert. Statistisch signifikante Unterschiede ergaben sich –in Bezug auf das Expressionsniveau zum Zeitpunkt 0– für die HAES-Gruppe zwei Stunden nach Reperfusion, in der HSD-Gruppe eine, drei Minuten und zwei Stunden nach Reperfusion. Signifikante Unterschiede im Sinne einer erhöhten Expression in der Kontrollgruppe wurden am Ende der Abklemmphase, 15 Minuten und 24 Stunden nach Reperfusion beobachtet (Abbildung 6).

Obwohl eine Aktivierung von Granulozyten mit einer Abnahme der L-Selektine auf der Zelloberfläche (Abschneiden der Moleküle durch Proteasen) einhergeht, nahm in beiden Gruppen die L-Selektinexpression bis zu 2 h nach Reperfusion zu und zeigte erst 24 h später einen Abfall, jedoch ohne dass ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen zu erkennen war.

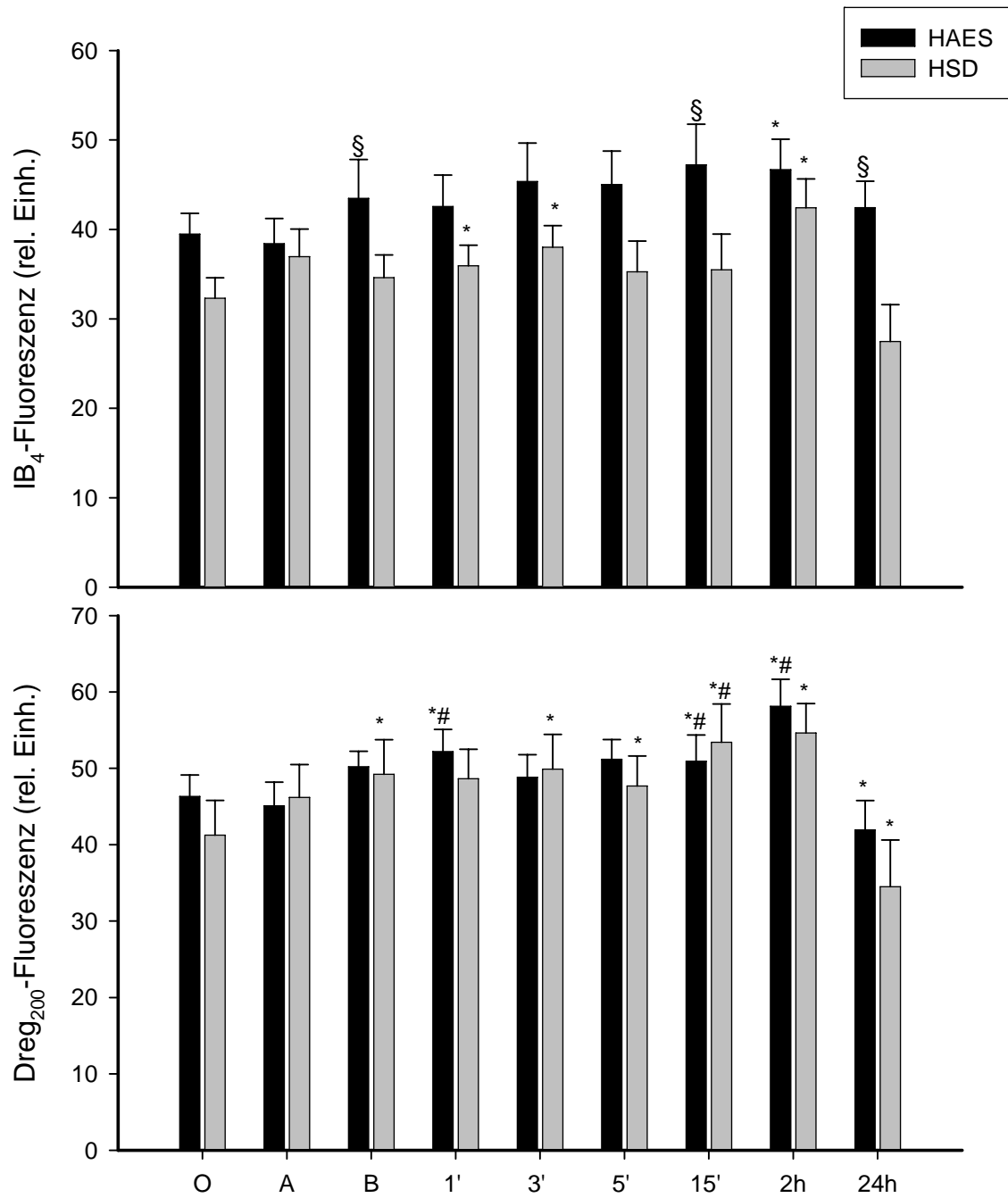


Abbildung 6. β_2 -Integrine (IB₄-Fluoreszenz) und L-Selektine (Dreg₂₀₀-Fluoreszenz). MW \pm SE, n = 7 pro Gruppe, * p < 0,05 vs Zeitpunkt 0, # p < 0,05 vs Zeitpunkt A, § p < 0,05 HSD vs HAES

4.3.3 Produktion von Superoxidanionen

Die Fähigkeit zirkulierender Granulozyten, spontan Superoxidanionen freizusetzen, war nach Anästhesieinduktion und vor Beginn der Infusion der Testlösungen nicht unterschiedlich, nahm in beiden Gruppen tendenziell, nicht-signifikant zu und erreichte maximale Werte 3 Minuten nach Wiedereröffnen der aortalen Strombahn. Nach Ende der Kolloidinfusion war die spontane Superoxidanionenproduktion in der Kontroll-HAES-Gruppe tendenziell höher als in der Verum-HSD-Gruppe. Eine statistisch signifikant geringere Freisetzung potenziell zytotoxischer Superoxidanionen mit maximaler Suppression wurde 15 Minuten nach Reperfusion in der HSD-Gruppe beobachtet. Auch die Bildung von Superoxidanionen nach zusätzlicher Stimulation der Zellen ex vivo mit dem chemotaktischen Tripeptid fMLP zeigte nach anfänglicher Steigerung auf ein gleich hohes und maximales Ausgangsniveau kurz vor Beginn der Kolloidinfusion im weiteren Verlauf tendenziell niedrigere Werte in der Verum HSD-Gruppe, ohne jedoch statistische Signifikanz im Vergleich zur HAES-Gruppe zu erreichen (Abbildung 7).

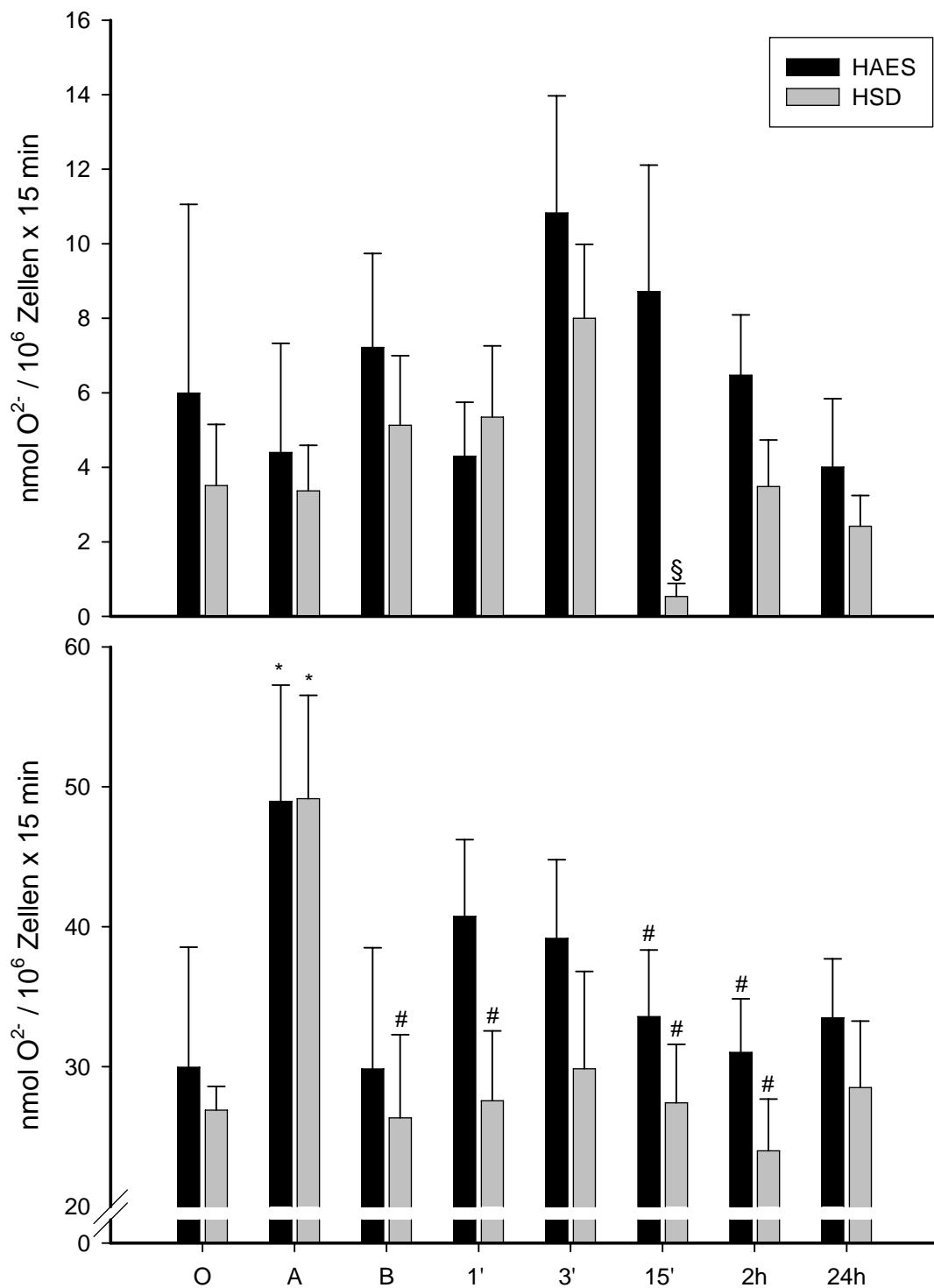


Abbildung 7. Spontane (oben) und fMLP-stimulierte (unten) Produktion reaktiver Sauerstoffspezies. MW ± SE, n = 7 pro Gruppe, * p < 0,05 vs Zeitpunkt 0, # p < 0,05 vs Zeitpunkt A, § p < 0,05 HSD vs HAES

4.3.4 Zellvolumen

Umgekehrt proportional zur Steigerung der Serumosmolalität infolge Infusion von hypertoner, hyperonkotischer Kochsalz-Dextranlösung (Abbildung 3) nahm das Volumen der Granulozyten noch vor Reperfusion auf minimale Werte tendenziell ab - um erst drei Minuten später tendenziell wieder anzusteigen. Im Gegensatz dazu stieg das Zellvolumen in der frühen Phase der Reperfusion in der HAES-Gruppe als Folge der Aktivierung der Granulozyten tendenziell passager an. Bedauerlicherweise konnte aufgrund technischer und logistischer Probleme keine größere Patientenzahl hinsichtlich der Veränderungen des Zellvolumens analysiert werden, so dass auf eine vergleichende Statistik innerhalb und zwischen den Gruppen verzichtet werden muss.

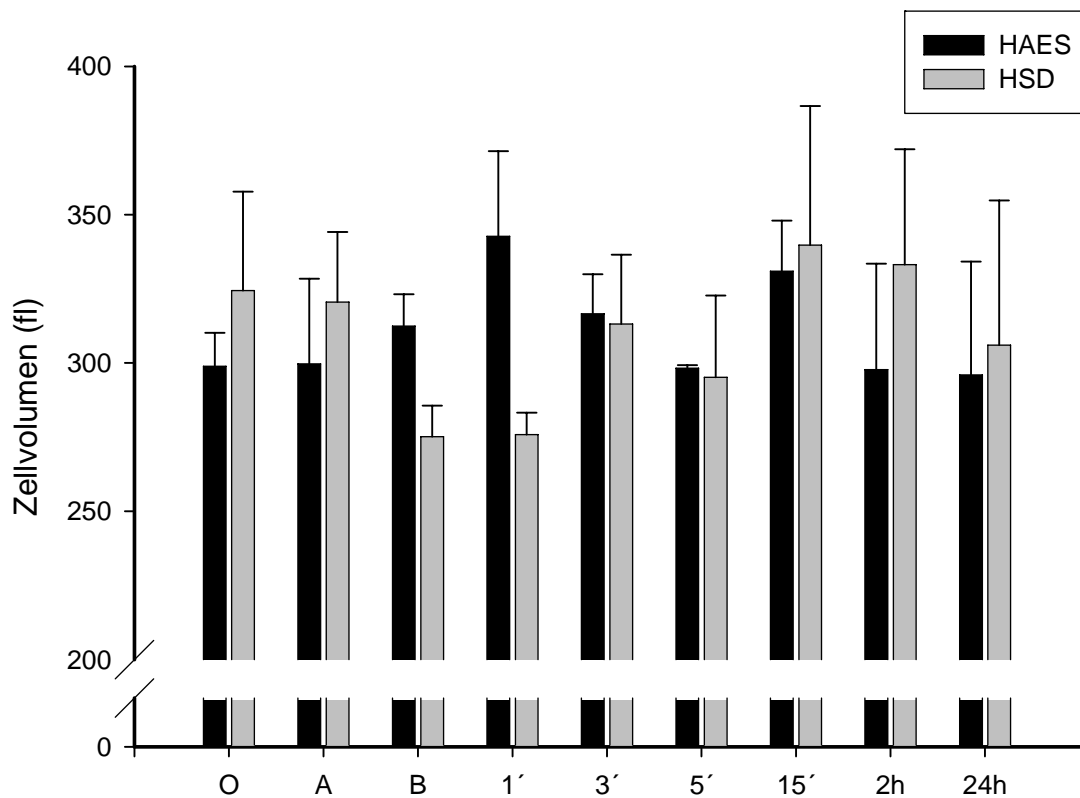


Abbildung 8. Zellvolumen. MW \pm SE, n = 2-3 pro Gruppe

4.3.5 Interleukin 6 und 8

Wie bei größerem Gewebetrauma zu erwarten, zeigte sich ein transientser Anstieg der inflammatorischen Zytokine Interleukin 6 und 8 in den beiden Gruppen mit maximalen Werten 2 h Stunden nach der Operation (Abbildung 9 und 10). Diese zeitlichen Veränderungen erreichten jedoch nur in der Kontroll-HAES-Gruppe statistische Signifikanz gegenüber den Ausgangswerten.

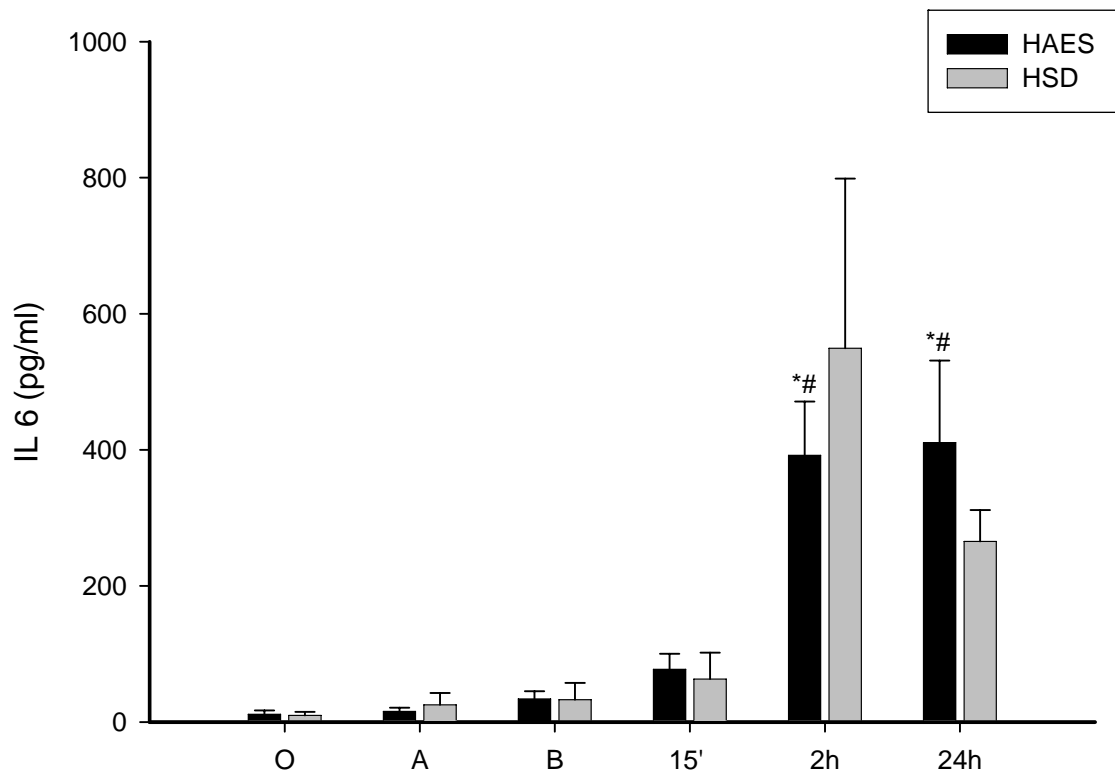


Abbildung 9. IL 6. MW \pm SE, n = 7 pro Gruppe, * p < 0,05 vs Zeitpunkt 0, # p < 0,05 vs Zeitpunkt A

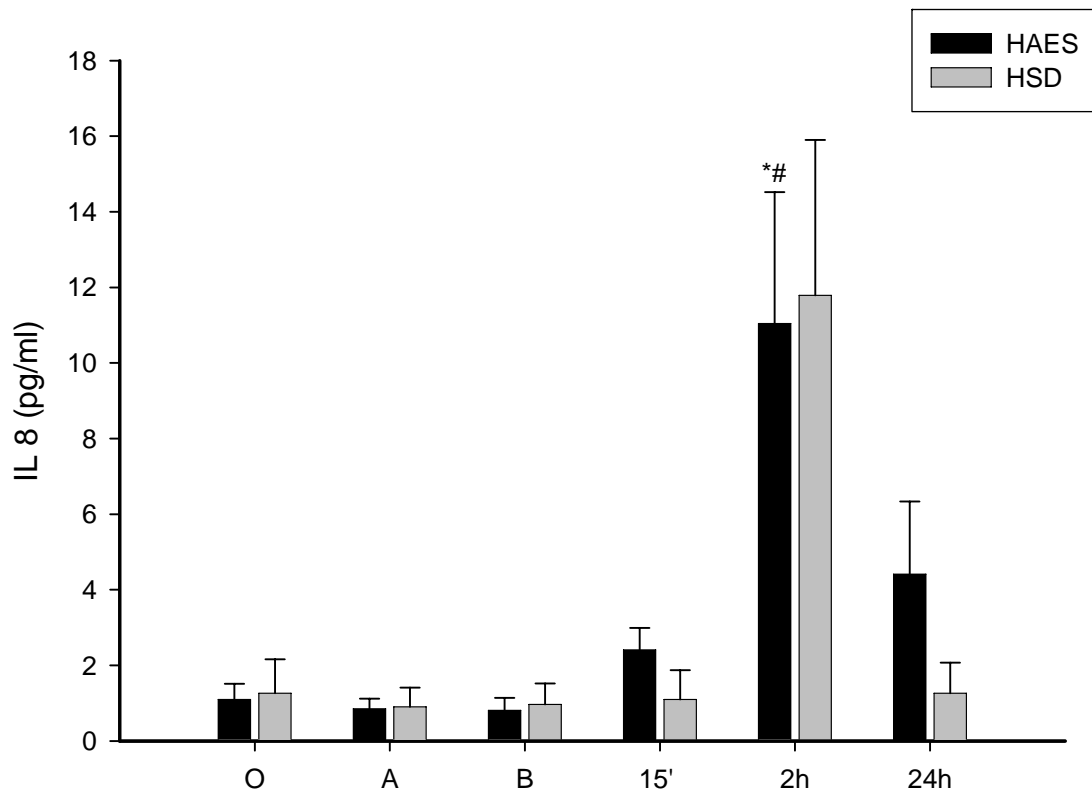


Abbildung 10. IL 8. MW \pm SE, n = 7 pro Gruppe, ^{*} p < 0,05 vs Zeitpunkt 0, [§] p < 0,05 vs Zeitpunkt A

5. DISKUSSION

5.1 Ischämie-Reperfusion-bedingte Störungen im Energiestoffwechsel bei Ausschaltung eines infrarenalen Bauchaortenaneurysmas

Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war es zu prüfen, ob es bei den im Studienprotokoll festgelegten Patientengruppen zu einer metabolisch fassbaren Ischämie-Reperusionsreaktion kommt. Zudem sollte beantwortet werden, welcher Metabolit des Energiestoffwechsels die größte Veränderung zeigt. Hierzu wurden klassische Ischämieparameter wie z.B. Laktat, pH und Base-Excess, aber auch Purinabbauprodukte aus dem Energiestoffwechsel bestimmt. Alle Parameter zeigten deutliche Veränderungen, abhängig vom Abklemmen der Aorta. Um zu ergründen, welcher der gemessenen Parameter am besten geeignet erscheint, eine Ischämie-Reperusionsreaktion zu erfassen, sollen im Folgenden zunächst die Veränderungen im Metabolismus der Kontroll-HAES-Gruppe, also derjenigen Patientengruppe eingehender betrachtet werden, die das herkömmliche Infusionsregime erhielt.

Im Vergleich zu anderen klinischen Ischämie-Reperusionsreaktionen z.B. nach Anwendung des Pringle-Manövers bei der Teilresektion der Leber zeigt sich, dass das Ausmaß der bei der Kontroll-HAES-Gruppe in der vorliegenden Studie zu beobachtenden Veränderungen der Purinplasmakonzentrationen ca. nur ein Drittel der Werte beträgt wie sie nach ca. 35 Minuten Ischämie der Leber in der Phase der Reperfusion auftreten [55].

Obwohl die Abklemmzeiten in beiden klinischen Studien vergleichbar lang sind (infrarenale Aneurysmaektomie ~ 38 min vs. Pringle-Manöver ~ 35 min), ergibt sich damit in der vorliegenden Studie eine deutlich schwächer ausgeprägte Ischämie-Reaktion. Dies erstaunt nicht, da bei infrarenalem Abklemmen vorwiegend die Muskulatur vom Zirkulationsstopp betroffen ist, welche im Gegensatz zum metabolisch hochaktiven Leberparenchym einen deutlich geringeren Ruheenergieumsatz hat [56]. In Einklang mit diesen Befunden relativ niedriger Purinplasmakonzentrationen bei infrarenaler Aneurysmaektomie stehen vergleichbar niedrige Werte bei schwerer körperlicher Belastung gesunder Sportler¹.

Bei Betrachtung der einzelnen Purine ergeben sich in der vorliegenden Studie für die Konzentrationen von Adenosin im Plasma keine statistisch signifikanten Veränderungen

¹ Persönliche Mitteilung Dr. A. Choukèr

(Tabelle 7). Im Unterschied zu dem eher enttäuschenden Verlauf der arteriellen Adenosin-Plasmakonzentrationen stehen die Veränderungen seiner Metabolite Inosin und Hypoxanthin: Beide Purine nahmen transient zu, wobei der Anstieg des Inosins eine Minute nach Beginn der Reperfusion erstmals statistische Signifikanz erreichte. Hypoxanthin stieg erst später mit Signifikanz 15 Minuten nach Reperfusion an, wobei beide Substanzen auf mehr als das Doppelte der Ausgangswerte zunahmen. Während das Ausmaß der Veränderungen beim Xanthin keine Signifikanz erreichte, war auch hier ein Trend zu einer verzögerten Kinetik zu beobachten, da tendenziell maximale Konzentrationen erst 15 Minuten nach Wiederherstellen des Blutflusses auftraten. Zusammenfassend ist damit bei den Purinen eine zeitlich versetzte Kinetik erkennbar, deren Abfolge dem Abbauweg von Adenosin bis zum Xanthin entsprechen könnte.

Die „klassischen“ Ischämieparameter wie Laktat, pH und BE zeigten ebenfalls eine deutliche Abhängigkeit von den einzelnen Phasen der Operation: Die Laktatplasmakonzentration fiel bis zum Zeitpunkt B signifikant ab. Bei Betrachtung des Basenüberschusses („base excess“, BE) und des pH-Wertes, fällt allerdings auf, dass ein Anstieg (s. Abbildung 5) bzw. Abfall bereits zum Zeitpunkt B zu beobachten war, also schon vor dem Declamping der Aorta. Letztere Veränderungen könnten durch die Existenz von Kollateralen erklärt werden, welche selbst nach dem Setzen der aortalen Klemme noch eine gewisse Perfusion der abhängigen Strombahn gewährleisten [3] und es so zur Einschwemmung saurer Stoffwechselprodukte in die Zirkulation kommt. Eine mögliche Antwort auf die Frage, warum nicht parallel dazu die Plasmalaktatkonzentration ansteigt, liefert folgende Hypothese: Ein Grund für das gegensätzliche Verhalten des Laktats könnte in der Induktion einer schnelleren Metabolisierung der Milchsäure im Herzmuskel in dieser Phase sein. Es ist bekannt, dass das Myokard bereits in Ruhe bis zu 40 % seines Energiebedarfs durch die Utilisation von Laktat deckt [57]. Eine weiterer Anstieg der myokardialen Laktatmetabolisierung wäre gerade in der Phase des Abklemmens der Aorta gut vorstellbar, da die akute Erhöhung der Nachlast zu einer erheblichen Steigerung der Herzarbeit führt.

Mit Beginn der Reperfusion kehren die Laktatkonzentration, der pH-Wert und der negative Basenüberschuss auf den Bereich der Ausgangswerte vor Abklemmen der Aorta zurück.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass alle gemessenen Parameter während der Operation systematischen Veränderungen unterliegen, deren Kinetik und Ausmaß sich Ischämie-Reperfusion-Phasen spezifisch unterscheiden: In der Phase des Abklemmens sinkt der pH-Wert signifikant ab und der negative Basenüberschuss steigt auf das Vierfache des Ausgangswertes signifikant an. Paradoxerweise fällt die

Plasmakonzentration des Laktats gegen Ende der Ischämie signifikant ab, eine Veränderung, die möglicherweise durch eine Verstoffwechslung im Herzmuskel zu erklären ist.

In der Phase der Reperfusion steigt allein die Plasmakonzentration des Inosins nach einer und drei Minuten gegenüber den vor Beginn der Ischämie bestehenden Ausgangswerten fast um das Doppelte signifikant an. Man kann deshalb den negativen Basenüberschuss in der Phase der Ischämie und das Inosin in der Phase der Reperfusion als die am frühesten und am empfindlichsten reagierenden metabolischen Parameter einer Ischämie bzw. einer Reperfusion betrachten.

Beim Vergleich der Purine zwischen den beiden Gruppen HAES und HSD zeigt sich ein nahezu identisches Verhalten. Die tendenziell größten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen sind beim Hypoxanthin und Xanthin zu erkennen. Beide Metabolite sind in der Phase der Reperfusion in der HSD-Gruppe höher, wenn auch keine Signifikanz erreicht wird. Da sich die beiden Patientengruppen bzgl. der Parameter der intraoperativen Hämodynamik und der Dauer der Ischämiezeit (s. Abs. 4.1.1) nicht unterscheiden, können bei aller Vorsicht die tendenziell höheren post-reperfusionellen Purinkonzentrationen in der HSD-Gruppe als ein Hinweis für ein besseres Auswaschen der Purinmetabolite aus dem zuvor ischämischen Gewebe gewertet werden. Ein vergleichbares Verhalten ist auch beim BE zu erkennen, wobei 15 Minuten nach Reperfusion ein signifikant höherer negativer Wert in der HSD-Gruppe zu beobachten war. Dies könnte bspw. durch eine bessere Wiedereröffnung und Perfusion der Mikrozirkulation nach Ischämie bedingt sein (sog. „Reflow-Paradox“) [58,59]. Bei „no-reflow“-Gefäßen hingegen handelt es sich um –auch nach Reperfusion– funktional von der Strombahn abgeschnittenen Gefäßprovinzen in der Mikrozirkulation. Ursache sind u.a. vergrößerte ödematöse Endothelzellen, welche durch Applikation von hypertoner Infusionslösung wieder zum Abschwellen gebracht werden können [11,60]. Bei diesem im angloamerikanischen Schrifttum als „microvascular salvage“ bezeichneten Effekt der hypertonen Infusionslösungen handelt es sich um eine von den immunologischen Auswirkungen auf PMNL unabhängige positive Wirkung, die über eine Rekrutierung der mikrovaskulären Strombahn durch „de-swelling“ von Endothelzellen zu dem in der HSD-Gruppe beobachteten gesteigerten Auswaschphänomen der Purinmetabolite und dem ausgeprägter negativen BE führen kann.

5.2 Inflammationsreaktion und Aktivierung von polymorphkernigen Granulozyten

5.2.1 Adhäsionsmoleküle

Während Ischämie und Reperfusion werden zirkulierende polymorphkernige Granulozyten durch eine Reihe von inflammatorischen Stimuli aktiviert. Erkennbar ist dies u.a. an einer Änderung der Expression von Adhäsionsmolekülen auf diesen Zellen [61,62]. Dem L-Selektin vermittelten Rollen von PMNL an der Gefäßwand folgt die Adhäsion der Zellen an das Endothel, vor allem im Abschnitt der postkapillären Venolen, ein Vorgang, der durch β_2 -Integrine vermittelt wird [16]. Dies bewirkt eine zusätzliche Stimulierung der PMNL durch Steigerung der Signaltransduktion in das Zellinnere (sogen. „co-signaling“) und führt zu einer verstärkten Freisetzung von reaktiven Superoxidanionen und proteolytischen Enzymen [17,20].

Durch den engen Kontakt der Granulozyten mit dem postkapillären Endothel wird dieses in Folge der o.g. Freisetzungsreaktionen nicht nur unmittelbar direkt geschädigt, sondern auch die Bildung homotypischer Granulozytenaggregate bewirkt aufgrund ihrer mikrohämodynamisch bedeutsamen Lokalisation eine weitere Widerstandserhöhung im Bereich der postkapillären Venolen mit der Konsequenz einer verstärkten Flüssigkeitssequestration in das Kapillarbett. Das sich entwickelnde interstitielle Ödem kann dann noch offene Kapillaren durch äußere Kompression direkt verschließen und zu dem sog. „no-reflow“ Phänomen u.a. im Hirn und Skelettmuskel nach Ischämie führen [58,59].

Die Sequestration von aktivierten PMNL stellt daher eine Reaktion dar, die dazu beiträgt den durch Ischämie entstandenen Schaden noch weiter zu verstärken. Dieses Konzept des „second hit“ durch Leukozyten wird unterstützt durch Befunde die zeigen, dass eine anti-neutrophilen Therapie effektiv den Ischämie-Reperfusionsschaden reduziert: Die Depletion von PMNL durch anti-Neutrophilen-Antikörper [18] oder durch Filterung [22] vor Ischämie-Reperfusion vermindert deutlich den Gewebeschaden. Zudem kann durch Einsatz von Antikörpern, die gegen Adhäsionsmoleküle auf Endothelzellen oder auf zirkulierenden PMNL gerichtet sind, ein hochgradiger Schutz vor Organschäden nach hämorrhagischem Schock erreicht werden [19,63,64].

Gemessen an der Expression von β_2 -Integrinen, zeigte sich eine deutliche Aktivierung der zirkulierenden PMNL in der vorliegenden Studie. Signifikante Überexpression gegenüber dem Ausgangswert ist für die HSD-Gruppe unmittelbar nach

Reperfusion sowie in beiden Gruppen 2h danach zu beobachten. Ein ähnliches Muster der Expression von Oberflächenmolekülen bei Bauchorten-Operationen wurde von Barry et. al. für das Oberflächenmolekül CD11b beschrieben [65], welches zusammen mit dem β_2 -Integrin (CD18) den Komplementrezeptor „CR3“ bildet. Vergleicht man beide Gruppen fällt ferner auf, dass zum Zeitpunkt B, 15' sowie 24h die PMNL der Patienten in der Kontroll-HAES-Gruppe signifikant mehr β_2 -Integrine exprimierten. Dies kann als Hinweis gewertet werden für eine verminderte Granulozyten-Aktivierung durch Applikation hypertoner, hyperonkotischer Dextranlösung, ein Befund der in unserer [54] und anderen Arbeitsgruppen [45,66-68] bereits früher aufgezeigt wurde.

Bei der Analyse der L-Selektine kann man feststellen, dass es zunächst zu einem Anstieg in der Expression auf PMNL bis zu 2 Stunden postoperativ kam (Signifikanzniveau wird in beiden Gruppen erreicht vs. Zeitpunkt 0). Eine Aktivierung von Granulozyten bedeutet jedoch ein Abspalten dieser Rezeptoren von der Zelloberfläche des Granulozyten in das Plasma, wohingegen eine Hochregulation als Mechanismus nicht beschrieben wird. Eine mögliche Erklärung für diesen Befund ist, dass es sich bei den analysierten Zellen um frisch aus Speichern (Knochenmark, Milz) freigesetzte PMNL handelte, welche ihre L-Selektinmoleküle bekanntlich noch nicht abgespalten haben und diese mit einer höheren Dichte exprimieren. Eine Betrachtung der Zellzahlen scheint diese Hypothese zu unterstützen, kann man doch einen entsprechenden Anstieg der Zahl zirkulierender PMNL im relevanten Zeitraum beobachten.

Zum Zeitpunkt 24 Stunden nach der Operation zeigte sich ein in beiden Gruppen ausgeprägter Abfall der Expression an L-Selektinen. In Kombination mit dem bis dahin erreichten höchsten Wert an PMNL im Blut spricht dies für eine ausgeprägte Aktivierung der Granulozyten. Im Gegensatz zu den Integrinen ergab der Intergruppenvergleich hier jedoch keinen signifikanten Unterschied, so dass die Applikation von hypertoner Kochsalzlösung die späte Aktivierung der PMNL –im Gegensatz zur frühen Reperfusion– nicht verhindern konnte.

5.2.2 Produktion von Superoxidanionen

Polymorphkernige Granulozyten reagieren nach Stimulation mit einem breiten Spektrum an Zellantworten, z.B. mit Chemotaxis, Degranulation, Phagozytose und einem Anstieg des oxidativen Stoffwechsels, dem sog. „respiratory burst“ [69]. Letzterer geht mit einem steilen Anstieg des zellulären Sauerstoffverbrauchs einher infolge der Produktion von reaktiven Superoxidanionen (O_2^-) durch die NADPH-Oxidase. In Sekundärreaktionen entstehen weitere hochreagible Metabolite, z.B. Wasserstoff-Peroxyd (H_2O_2), Hydroxyl-

Radikale (HO^\bullet) und Singulett-Sauerstoff ($^1\text{O}_2$). Reaktive Sauerstoffspezies spielen eine entscheidende Rolle in der bakteriziden Wirkung von Neutrophilen und für die Erfüllung ihrer Aufgaben im Inflammationsprozess [70]. Bereits 1984 wurde von Markert [52] beschrieben, wie die Superoxidanionenproduktion von Granulozyten mit Hilfe von reduziertem Cytochrom C zu messen sei, ein Verfahren, das in abgewandelter Form in dieser Arbeit zum Einsatz kam [51]. Gemessen wurden sowohl die spontane als auch die fMLP-stimulierte Produktion von Superoxidanionen durch Phagozyten im Vollblut.

Bei der Betrachtung der Superoxidanionenproduktion in dieser Studie fällt auf, dass die Werte zum Zeitpunkt Null –vor Intervention– stark unterschiedlich für beide Gruppen waren und eine große Standardabweichung aufwiesen, ein Verhalten welches nicht untypisch für diese Situation zu sein scheint [71]. Dies kann dadurch erklärt werden, dass die Zeitspanne von Narkoseeinleitung bis zur Messung recht unterschiedlich ist: Unterschiede im Zeitaufwand für die Anlage einer thorakalen Periduralanästhesie, eines arteriellen und zentralvenösen Zugangs und das Einschwenken eines Pulmonalarterien-Katheters, bedingt z.B. durch technische Schwierigkeiten, Fehl- bzw. Mehrfachpunktionen, etc. können hier zu einem unterschiedlichem Niveau der Aktivierung der Leukozyten geführt haben. Zum Zeitpunkt A scheinen sich diese Unterschiede bereits wieder nivelliert zu haben.

Am Auffälligsten bei Betrachtung der unstimulierten (spontanen) Superoxidanionen-Produktion war ein deutlicher, signifikanter Unterschied 15 Minuten nach Wiedereröffnen der Aorta. Es handelt sich hier um eine ausgeprägte Hemmung der Produktion reaktiver Superoxidanionen durch hypertone (Dextran-) Lösung, ein Befund der durch zahlreiche Voruntersuchungen bestätigt werden kann [44,72-74] und darauf hinweist, dass hypertone, hyperonkotische Dextranlösung geeignet scheint, den Ischämie-Reperfusionsschaden zu verringern. Bemerkenswert ist, dass diese Suppression der Superoxidanionenproduktion nicht mit einer verminderten Mikrobizidität der PMNL einherzugehen scheint [75].

Auch bei der Interpretation der fMLP-stimulierten Superoxidanionenproduktion gilt das oben Gesagte bezüglich den unterschiedlichen Bedingungen bei Induktion der Narkose. Zum Zeitpunkt A zeigten beide Gruppen einen signifikanten Anstieg auf das gleiche Niveau, um danach wieder abzufallen. Dies kann als Aktivierung durch das Gewebetrauma und anschließende Wirkung der Infusion der beiden Kolloide interpretiert werden, wobei sich eine Hemmung durch Umhüllen („coating“) der PMNL ergeben haben könnte. Bei den folgenden Messzeitpunkten war der Aktivierungsgrad der HSD Gruppe immer niedriger als der HAES-Gruppe. Obwohl keine statistische Signifikanz erreicht wurde, kann dieser Trend als Hinweis auf den Einfluss der hypertonen Kochsalz-

Dextraninfusion gewertet werden. Möglicherweise spielt auch der Unterschied zwischen Dextran und Hydroxyethylstärke und ihre jeweilige Wirkung auf PMNL eine Rolle, wobei dem Dextran spezifische Eigenschaften zugeschrieben werden, wie z.B. die Verminderung der Leukozytenadhärenz nach Hämorrhagie oder Endotoxinämie [76-78]. Der Wirkmechanismus auf (sub-) zellulärer Ebene ist jedoch noch nicht genauer erforscht.

5.2.3 Zellvolumen

Seit langem ist bekannt, dass polymorphkernige Granulozyten (PMNL) wenn sie aktiviert werden, um bis zu 30 % im Durchmesser zunehmen. So spielen für die Zellsequestration neben den u.a. oben beschriebenen Signalketten über Oberflächenrezeptoren rein mechanische Gesichtspunkte eine Rolle. Wird z.B. der pulmonale Kapillardurchmesser durch Blähen der Lunge vermindert, so kommt es zu einer gesteigerten pulmonalen Zellsequestration [79,80]. Unter physiologischen Bedingungen scheinen es sogar vorwiegend mechanische Faktoren zu sein, die die Sequestration der PMNL in der Lungenstrombahn bestimmen. Hierfür spricht z.B. die Beobachtung, dass polymorphkernige Leukozyten mit genetisch bedingter Minderexpression von β_2 -Integrinen eine normale Passagezeit aufweisen und nicht weniger sequestrieren als beim Gesunden [81]. Neben diesen – zumeist unbeachteten – rein mechanischen Gesichtspunkten gibt es zunehmend mehr Daten die belegen, dass das Zellvolumen eine wichtige Rolle im Aktivierungsprozess spielt. Volumenverkleinerung nach osmotischem Stress scheint eine wichtige Rolle für die Supprimierung der Signaltransduktion zu spielen [82-85]. So wird der p38-MAPK-Signalweg, der eine Schlüsselrolle in der Aktivierung der PMNL spielt, durch klinisch relevante Hypertonizität moduliert [86] und durch Restrukturierung des Zytoskelett gehemmt [87], abhängig von der extrazellulären Tonizität.

In der vorliegenden Arbeit wurde ein Verfahren angewendet mit dem es möglich war, das Zellvolumen zirkulierender Granulozyten ex vivo ohne Veränderung der extrazellulären Osmolalität zu messen. Da die Vorwärtslichtstreuung sehr gut mit dem Zellvolumen korreliert ist [88], war es möglich ohne vorherige Isolierung der Zellen das Volumen zu bestimmen. Nachteil der Zellseparation ist bekanntlich immer ein gewisses Maß an Aktivierung immunkompetenter Zellen durch den Isolationsprozess [89,90]. Mehrere Versuche eine Volumenregulation während der Zellisolation zu verhindern zeigten sich jedoch entweder als nicht effektiv oder als nicht praktikabel, weshalb die von uns zuletzt

entwickelte Methode mit nur einem Verdünnungsschritt einherging und sich als überlegen erwies.

Leider konnte aus personellen sowie zeitlich-organisatorischen Gründen nicht bei allen Patienten eine Messung des Zellvolumens durchgeführt werden. Wir verzichteten deshalb auf eine statistische Auswertung und Interpretation und beschränkten uns auf die exemplarische Darstellung der gewonnenen Daten im Ergebnisteil. Letzteres auch mit dem Ziel, die neue Methode nicht nur zu beschreiben, sondern auch ihre Durchführbarkeit aufzuzeigen. Der Vergleich der Kinetik der Serumosmolalität mit dem Zellvolumen zeigte eine inverse Beziehung nur in der HSD Gruppe als möglichen Hinweis auf eine hypertonzitäts-bedingte Zelldehydratation, deren potenzielle Folgen eine Hemmung granulözytärer zytotoxischer Funktionen wie die oben diskutierte β 2-Integrinexpression (s. Abs. 5.2.1) und die Superoxidanionenproduktion (s. Abs. 5.2.2) sein könnten.

5.2.4 Zytokine: Interleukin 6, 8

Interleukin (IL) 6 ist ein Botenstoff, der in seinen Eigenschaften sehr gut charakterisiert ist und von vielen Zellarten produziert und sezerniert wird, z.B. von Monozyten, Endothelzellen, T-Lymphozyten, PMNL und Makrophagen [91]. Neben vielen anderen Funktionen bewirkt IL 6 die Produktion der Akut-Phase-Proteine in der Leber und es spricht vieles dafür, dass es einer der wichtigsten Mediatoren der postoperativen Stressreaktion ist [92]. IL 6 besitzt pleiotrope Eigenschaften, weshalb erhöhte Plasmaspiegel mit einem schlechteren Outcome in anderen Studien in Zusammenhang gebracht wurden [93]. Der Anstieg der Zytokin-Spiegel bei (Gefäß-) chirurgischen Eingriffen ist gut definiert und vielfach dokumentiert [94-96]. Ursachen dafür sind die Ischämie-Reperfusionreaktion, die Aktivierung von Leukozyten an Fremdoberflächen und das Operationstrauma bei der Laparotomie.

Betrachtet man den Verlauf des IL 6 so zeigte sich ein Gipfel zwei Stunden nach Operationsende. Die gemessenen Werte sind vergleichbar mit denen, die z.B. Rowland bei der gleichen Eingriffsart berichtet, jedoch ergaben sich in seiner Arbeit [97] die höchsten Werte zum Zeitpunkt 24 Stunden nach der Operation. Erstaunlicherweise war die mittlere Clampingzeit mit 82,5 min mehr als doppelt so lange wie in unserer Studie (HAES $38,5 \pm 5,7$ min, HSD $32,6 \pm 3,8$ min), so dass eine Vergleichbarkeit der Daten nur begrenzt möglich ist. In einer von Galle et al [98] durchgeführten Untersuchung, in der er offenes mit endovaskulärem Vorgehen vergleicht, waren die in der Gruppe mit Laparotomie gemessenen IL 6 Werte deutlich niedriger als die in der vorliegenden

Arbeit. Dies verwundert nicht, da die Patienten in der Studie von Galle et al. in der Mehrzahl Y-Prothesen im Bereich der Aorten-Bifurkation erhielten. Dabei wurde die Strombahn der jeweiligen Seite zu unterschiedlichen Zeitpunkten wiedereröffnet, so dass es zu geringeren Peak-Werten kommen musste.

Interleukin 8 ist ein starkes pro-inflammatorisches Zytokin, welches ähnlich dem IL 6 von verschiedenen Zellen sezerniert wird [99]. Es ist chemotaktisch wirksam, aktiviert Neutrophile stark [100-102] und ist damit entscheidend für die Entwicklung eines Ischämie-Reperfusionsschadens [103,104]. Patienten, die sich einer Operation wie der eines abdominalen Aortenaneurysmas unterziehen, weisen erhöhte IL 8 Spiegel auf und es konnte ein Zusammenhang zwischen dem Ausmaß des Anstiegs dieses Zytokins und einer schlechten Prognose aufgezeigt werden [105]. In der vorliegenden Studie stiegen die IL 8 Werte als Ausdruck der inflammatorischen Aktivierung infolge des Eingriffs deutlich an. Die absoluten Werte fielen jedoch im Vergleich mit denen aus anderen Studien geringer aus (ca. 1/5 verglichen mit Operationen eines BAA [97] oder auch TAA [15]). Ein Grund könnte auch hier wieder die deutlich kürzere Phase der Gewebeischämie in der vorliegenden Studie sein oder verglichen mit thorakalen Aneurysmen, das geringere Gewebetrauma.

Beachtlich ist, dass sowohl bei IL 6 als auch bei IL 8 nur in der HAES-Gruppe signifikante Veränderungen bezüglich der Zeitpunkte 0 sowie A erreicht wurden. Dies kann man als möglichen Hinweis auf eine anti-inflammatorische Wirkung von HSD werten.

5.3 Klinischer Verlauf

Die beiden Patientengruppen unterschieden sich nicht bezüglich der postoperativen Flüssigkeitsbilanz oder im Katecholaminbedarf. Hinsichtlich der hämodynamischen Parameter verhielten sich die HSD und die Kontrollgruppe gleich. Da die größten hämodynamischen Veränderungen in der Phase der Ischämie und in der frühen Phase der Reperfusion auftreten, haben wir auf eine Darstellung hämodynamischer Messgrößen zu späteren Zeitpunkten nach Reperfusion angesichts fehlender Signifikanzen innerhalb und zwischen den Gruppen verzichtet. Keiner der Patienten erhielt während des Beobachtungszeitraumes Hydrokortison, um dessen immunologische Effekte zu vermeiden.

Der Fokus der vorliegenden Arbeit lag auf der Beleuchtung von ausgewählten metabolischen und immunologischen Aspekten der Wirkung von hypertoner, hyperonkotischer Dextranlösung. Aufgrund der kleinen Fallzahl von $n = 7$ pro

Patientengruppe ist eine Aussage bezüglich besserem Überleben bei Applikation von HSD im Rahmen des Ausschaltens eines Bauchaortenaneurysmas nicht möglich. Dennoch soll hier kurz anhand des Interleukin 6 auf indirekte Hinweise eingegangen werden, ob ein solcher Effekt bei einer größeren Fallzahl zu erkennen wäre.

Interleukin 6 ist möglicherweise einer der wichtigsten Botenstoffe einer postoperativen Akut-Phase-Reaktion [92] und es ist belegt, dass erhöhte Plasmaspiegel in vielen Situationen mit einem schlechten Outcome korreliert sind [93,106-108]. Dies gilt für die akute Phase, aber auch im Besonderen für die Langzeitprognose bei Patienten mit Bauchaortenaneurysma [109]. Je höher die gemessenen IL 6 Spiegel, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, dass Patienten in der perioperativen Phase Komplikationen erleiden.

Bei Vergleich der beiden Gruppen HSD und HAES zeigten sich keine substanziellen Differenzen bei den IL 6 Werten. Dies würde bedeuten, dass die primäre Vermutung von positiven Effekten einer Applikation von HSD nicht bestätigt werden kann. Wenngleich der Intergruppenvergleich bei einer Fallzahl von je 7 Patienten pro Gruppe keine Unterschiede identifiziert ist jedoch bemerkenswert, dass sowohl bei IL 6 als auch bei IL 8 nur die HAES-Kontroll-Gruppe signifikante Veränderungen bezüglich der Zeitpunkte 0 sowie A erreichte. Dies könnte man als eine geringere systemische Entzündungsreaktion bei Anwendung der HSD-Lösung interpretieren.

Neben der kleinen Größe der Gruppen ist die Dauer der Ischämiezeit eine weitere Ursache, die ein Aufzeigen von Unterschieden zwischen den beiden Patientenkollektiven erschwerte.

Im Vergleich mit anderen Studien war die Abklemmzeit mit im Mittel nur 38 Minuten kurz, welches auf das sehr schnelle chirurgische Vorgehen in beiden Gruppen (alle Operationen wurden von demselben Operateur durchgeführt) zurückzuführen ist. Es stellt sich damit die Frage, ob bei längerer Ischämiezeit die Infusion von HSD womöglich sich noch deutlicher und dann mit klinischer Relevanz zum Vorteil des Patienten ausgewirkt hätte.

6. ZUSAMMENFASSUNG UND SCHLUSSFOLGERUNG

Operationen an der Hauptschlagader und speziell an deren intraabdominellen Abschnitt stellen nach wie vor eine große chirurgische und anästhesiologische Herausforderung dar, die mit einem substanziellen Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko für den Patienten belastet ist. Bei der Ausschaltung eines Bauchortenaneurysma und der Implantation einer Gefäßprothese kommt es zu ausgeprägten Störungen in der Hämodynamik während des Abklemmens und der Wiedereröffnung der Aorta. In den vom Blutfluss abgeschnittenen Gefäßprovinzen der unteren Körperhälfte entstehen primär metabolische Schäden durch Ischämie und ihren Folgen wie z.B. der Anhäufung potenziell toxischer Metabolite des Energiestoffwechsels, Generierung reaktiver Sauerstoffspezies und Alterationen der zellulären Signaltransduktion. Sekundär, nach Wiederherstellung des Blutflusses, reagieren polymorphkernige Granulozyten mit dem bereits während der Ischämie geschädigten Kapillarendothel und Gewebe. Die Leukozyten sezernieren zusätzlich zytotoxische Stoffe wie reaktive Sauerstoffspezies („respiratory burst“) und Enzyme und schädigen durch ihre Aktivierung das wiederperfundierte Gewebe aber auch Organe wie z.B. die Lunge, welche primär nicht durch die Ischämie betroffen waren, mit teilweise deletären Folgen („second hit“).

Die Infusion kleiner Volumina von hypertoner Kochsalzlösung („Small Volume Resuscitation“, SVR) ist ein seit langem bekanntes Konzept zur schnellen Wiederherstellung des intravasalen Volumens beim hämorrhagischen Schock. Der Einsatz dieser Substanzen ist mittlerweile bei einer Vielzahl von klinischen Situationen möglich und indiziert (z.B. intraoperativ, bei Sepsis oder Schädel-Hirn-Trauma). Durch Zusatz einer hyperonkotischen Kolloidkomponente erhofft man sich zudem eine Verlängerung der Wirkungen der Infusion. Eine stetig wachsende Anzahl wissenschaftlicher Studien zur SVR, die sich mit deren Wirkung auf zellulärem und subzellulärem Niveau beschäftigt, zeigt, dass es zu einer Vielzahl günstiger Wirkungen kommt: Sowohl antiinflammatorische und immunmodulierende Effekte, als auch die Fähigkeit zur Verbesserung der Mikrozirkulation konnten nachgewiesen werden.

In der vorliegenden Arbeit wurden die hämodynamischen, metabolischen und immunologischen Auswirkungen der SVR mit einer hypertonen, hyperonkotischen Dextranlösung bei Patienten während der Ausschaltung eines infrarenalen Bauchortenaneurysmas untersucht. Als Vergleichskollektiv dienten Patienten, die mit einem Standardinfusionsregime (Hydroxyethylstärke) therapiert wurden.

Die Untersuchungen dieser prospektiv randomisierten, verumkontrollierten, offenen Studie sollten Auskunft über folgende Fragen geben:

1) Kommt es bei Patienten mit Ausschaltung eines infrarenalen Bauchortenaneurysmas zu einer metabolisch fassbaren Ischämie-Reperfusionreaktion ?

2) Welcher Metabolit des Energiestoffwechsels zeigt die größte Veränderung ?

3) Bewirkt Ischämie-Reperfusion bei diesen Patienten eine Aktivierung polymorphkerniger Granulozyten ?

4) Kann die Ischämie-Reperfusion bedingte Aktivierung der PMNL durch Applikation von hypertoner, hyperonkotischer Kochsalz-Dextran-Lösung (HSD) supprimiert werden ?

5) Welchen Einfluss hat die Therapie mit HSD-Lösung auf die postoperative inflammatorische Reaktion ?

Alle gemessenen Parameter des Energiestoffwechsels wiesen während der Operation systematische Veränderungen auf, deren Kinetik und Ausmaß sich Ischämie-Reperfusion-Phasen spezifisch unterschieden:

Bereits in der Phase des Abklemmens sank der pH-Wert ab und der negative Basenüberschuss stieg bis auf das Vierfache des Ausgangswertes an, während sich bei den Purinen im arteriellen Blut keine signifikanten Veränderungen ergaben.

Mit Beginn der Reperfusion stiegen das Laktat und die Purine, insbesondere das Inosin, an, während pH-Wert und negativer Basenüberschuss unverändert blieben. Unter Einbeziehung des Ausmaßes der Veränderungen sowie deren Signifikanz gegenüber den Ausgangswerten, kann man den negativen Basenüberschuss in der Phase der Ischämie und die arterielle Inosinplasmakonzentration in der Phase der Reperfusion als die sensitivsten Parameter für das Erkennen einer metabolischen Ischämie-Reaktion bezeichnen.

Vergleicht man die Veränderungen der Purine zwischen der HAES-Kontrollgruppe und der HSD-Therapiegruppe, ergab sich ein nahezu identisches Verhalten und einzig das Xanthin ließ nach 24h einen signifikanten Unterschied erkennen. In der HSD-Gruppe lagen damit die in der Phase der Reperfusion gemessenen Purinplasmakonzentrationen mit Ausnahme des Xanthins nur tendenziell höher als in der HAES-Kontrollgruppe. Da sich die beiden Patientengruppen bzgl. der intraoperativen Hämodynamik und der Dauer der Ischämiezeit nicht unterschieden, könnten diese tendenziell höheren post-reperfusionellen Purinkonzentrationen in der HSD-Gruppe als ein Hinweis für ein besseres Auswaschen der Purinmetabolite aus dem zuvor ischämischen Gewebe

gewertet werden. Dies ist möglicherweise durch eine bessere Wiedereröffnung und Perfusion der Mikrozirkulation nach Ischämie bedingt.

Ursächlich hierfür könnte neben dem „de-swelling“ von Endothelzellen durch hypertone HSD-Lösung auch eine Hemmung potenziell zytotoxischer Funktionen polymorphkerniger Leukozyten und der systemischen Entzündungsreaktion sein. So zeigte die Expression von Adhäsionsmolekülen auf Granulozyten, als Marker ihrer Aktivierung, dass es nicht nur zu einer Zunahme der β_2 -Integrine, die für die Adhäsion („sticking“) der PMNL am Endothel verantwortlich sind, in der HAES-Gruppe kam, sondern dass zum Zeitpunkt 15 Minuten und zwei Stunden nach Wiedereröffnen der Aorta in der HSD Gruppe signifikant niedrigere Werte gemessen wurden. Die L-Selektine stiegen an, ein Unterschied zwischen den Gruppen konnte jedoch nicht festgestellt werden.

Die Fähigkeit zirkulierender Granulozyten, spontan reagibile Superoxidanionen zu produzieren und freizusetzen war in der HSD Gruppe 15 Minuten nach Reperfusion ebenfalls signifikant vermindert. Für die fMLP-stimulierte Superoxidanionenproduktion konnte ein Trend zu niedrigeren Werten bei den HSD-Patienten beobachtet werden.

Das Volumen zirkulierender Granulozyten zeigte Veränderungen, die jedoch aufgrund der geringen Fallzahl statistisch nur beschreibend analysiert werden konnten. Betrachtet man die Mittelwerte und die Trends der Volumina, so nimmt Parallel zur Steigerung der Serumosmolalität durch Infusion von hypertoner, hyperonkotischer Kochsalz-Dextranlösung das Volumens der Granulozyten noch vor Reperfusion auf minimale Werte ab, um erst 3 Minuten später tendenziell wieder anzusteigen. Im Gegensatz dazu stieg das Zellvolumen in der frühen Phase der Reperfusion in der HAES-Gruppe als Folge der Aktivierung der Granulozyten passager an. Da das Zellvolumen intrazelluläre Signalwege und zytoskeletäre Strukturen mit Bedeutung für die Aktivierung von Granulozyten beeinflusst, könnte eine hypertonizitäts-bedingte Zelldehydratation mitursächlich für die in der HSD-Gruppe beschriebene Hemmung granulozytärer zytotoxischer Funktionen wie der β_2 -Intergrinexpression und der Superoxidanionenproduktion sein.

Die Zytokine Interleukin 6 und 8, die beide als prognostische Marker für den perioperativen Verlauf gelten, stiegen deutlich in beiden Gruppen an, als Ausdruck der durch den großen Eingriff verursachten Inflammationsreaktion. Wenngleich der Intergruppenvergleich keine statistisch signifikanten Unterschiede erbrachte, war nur in der HAES-Kontroll-Gruppe der Anstieg von IL 6 und IL 8 signifikant. Dies kann neben der gehemmten Aktivierung von Granulozyten als ein weiterer Hinweis auf eine anti-inflammatorische Wirkung von HSD gewertet werden.

Die Aussagen der Studie sind allerdings limitiert. Aufgrund der kleinen Fallzahlen war es nicht möglich, positive Effekte von HSD für den klinischen Verlauf aufzuzeigen. Weiterhin zeigte sich, dass das hier gewählte Modell aufgrund des versierten und schnellen chirurgischen Vorgehens zu keiner ausgeprägten Ischämie-Reperfusionreaktion führte, so dass die gemessenen Effekte auch nur gering sein konnten.

Die Anwendung von hypertoner, hyperonkotischer Dextranlösung war sicher und die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen erwarten, dass bei größerer Fallzahl und bei Eingriffen mit längerer Ischämie, auch der klinische Verlauf von Patienten mit operativer Ausschaltung eines infrarenalen Bauchaortenaneurysmas signifikant verbessert wird.

7. ABKÜRZUNGEN

5-HT	5-Hydroxy-Tryptamin
ADP	Adenosindiphosphat
AMP	Adenosinmonophosphat
ASA	American Society of Anesthesiologists Score
ATP	Adenosintriphosphat
BAA	Bauchaortenaneurysma
BE	Base Excess
C1...9	Complementfaktor 1 bis 9
CVP	Central Venous Pressure
DNS	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylen Diamine Tetraacetic Acid
EG-GCP	EG Good Clinical Practice
EGTA	Ethylenglycol-bis-(β -aminoethylether) N,N,N',N' tetraessigsäure
EHNA	Erythro-9-(2-Hydroxy-3-Nonyl)-Adenin
FACS	Fluorescence Activated Cell Sorter
fMLP	N-formyl-Methionin-Leucin-Phenylalanin
FSC	Forwardscatter
HBSS	Hanks Buffered Salt Solution
HAES	Hydroxy Aethyl Stärke
HI	Herzindex
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HR	Heart Rate
HSD	Hypertonic Saline Dextran
IL 6,8	Interleukin 6, 8
MAC	Membrane Attac Complex
MPAP	Mean Pulmonary Arterial Pressure
NADPH	Nikotinamiddinukleotidphosphat
NYHA	New York Heart Association Score
PAF	Platelet Activating Factor
PCWP	Pulmonary Capillary Wedge Pressure
PMNL	Polymorphenuclear Leukocyte
SE	Standard Error
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
SOD	Superoxid-Dismutase

SVR	Small Volume Resuscitation
TAA	Thorakales Aortenaneurysma
TNF	Tumornekrosefaktor

8. ZEITSCHRIFTENVERZEICHNIS

Acta Anaesthesiol Scand	Acta Anaesthesiologica Scandinavica
Acta Chir Scand	Acta Chirurgica Scandinavica
Am Heart J	American Heart Journal
Am J Pathol	American Journal of Pathology
Am J Physiol	American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology
Am J Respir Crit Care Med	American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine
American Journal of Surgery	American Journal of Surgery, The
Ann Surg	Annals of Surgery
Ann Thorac Surg	Annals of Thoracic Surgery, The
Annu Rev Immunol	Annual Review of Immunology
Arch Surg	Archives of Surgery
Biochem Biophys Res Commun	Biochemical and Biophysical Research Communications
Br J Surg	British Journal of Surgery
Cardiovasc Surg	Cardiovascular Surgery
Cell Biochem Funct	Cell Biochemistry and Function
Chest	
Circ Res	Circulation Research
Circulation	
Crit Care Med	Critical Care Medicine
Cytokine	
Cytometry	
Eur J Appl Physiol	European Journal of Applied Physiology
Eur J Emerg Med	European Journal of Emergency Medicine
Eur J Vasc Endovasc Surg	European Journal of Vascular and Endovascular Surgery
Eur Surg Res	European Surgical Research
Experientia	
Faseb J	The FASEB Journal
Gut	
Hepatology	

Int J Exp Pathol	International Journal of Experimental Pathology
Intensive Care Med	Intensive Care Medicine
J Appl Physiol	Journal of Applied Physiology
J Biol Chem	The Journal of Biological Chemistry
J Burn Care Rehabil	Journal of Burn Care & Rehabilitation
J Chromatogr	Journal of Chromatography
J Clin Invest	Journal of Clinical Investigation (JCI)
J Endovasc Ther	Journal of Endovascular Therapy
J Extra Corpor Technol	Journal of Extracorporal Technology
J Immunol	Journal of Immunology
J Leukoc Biol	Journal of Leukocyte Biology
J Surg Res	Journal of Surgical Research
J Trauma	The Journal of Trauma
J Vasc Surg	Journal of Vascular Surgery
J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med	Journal of Veterinary Medicine, Series A: Physiology, Pathology, Clinical Medicine / Zentralblatt für Veterinärmedizin
Journal of Immunology	Journal of Immunology
Journal of Vascular Surgery	Journal of Vascular Surgery
Lancet	The Lancet
Life Sci	Life Sciences
Methods Enzymol	Methods : A Companion to Methods in Enzymology
Nature	
Obes Rev	Obesity Reviews
Proc Natl Acad Sci U S A	Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America
Science	
Shock	
Spine	
Stroke	
Surgery	
Vasa	VASA : Zeitschrift für Gefäßkrankheiten

9. LITERATURVERZEICHNIS

1. Crawford ES, Saleh SA, Babb JW, 3rd, Glaeser DH, Vaccaro PS, Silvers A. Infrarenal abdominal aortic aneurysm: factors influencing survival after operation performed over a 25-year period. *Ann Surg* 1981;**193**(6):699-709.
2. Brewster DC, Cronenwett JL, Hallett JW, Jr., Johnston KW, Krupski WC, Matsumura JS. Guidelines for the treatment of abdominal aortic aneurysms. Report of a subcommittee of the Joint Council of the American Association for Vascular Surgery and Society for Vascular Surgery. *J Vasc Surg* 2003;**37**(5):1106-17.
3. Miller RD. Anesthesia. 4th ed. New York: Churchill Livingstone, 1994.
4. Soisalon-Soininen S, Salo JA, Takkunen O, Mattila S. Comparison of long-term survival after repair of ruptured and non-ruptured abdominal aortic aneurysm. *Vasa* 1995;**24**(1):42-8.
5. Johnston KW. Nonruptured abdominal aortic aneurysm: six-year follow-up results from the multicenter prospective Canadian aneurysm study. Canadian Society for Vascular Surgery Aneurysm Study Group. *J Vasc Surg* 1994;**20**(2):163-70.
6. Berridge DC, Chamberlain J, Guy AJ, Lambert D. Prospective audit of abdominal aortic aneurysm surgery in the northern region from 1988 to 1992. Northern Vascular Surgeons Group. *Br J Surg* 1995;**82**(7):906-10.
7. Mangano DT. Perioperative cardiac morbidity. *Anesthesiology* 1990;**72**(1):153-84.
8. White GH, Advani SM, Williams RA, Wilson SE. Cardiac risk index as a predictor of long-term survival after repair of abdominal aortic aneurysm. *American Journal of Surgery* 1988;**156**(2):103-7.
9. Roizen MF, Beaupre PN, Alpert RA, Kremer P, Cahalan MK, Shiller N, Sohn YJ, Cronnelly R, Lurz FW, Ehrenfeld WK. Monitoring with two-dimensional transesophageal echocardiography. Comparison of myocardial function in patients undergoing supraceliac, suprarenal-infraceliac, or infrarenal aortic occlusion. *J Vasc Surg* 1984;**1**(2):300-5.
10. Virchow R. Die Cellularpathologie in ihrer Begründung auf physiologische Gewebelehre. Berlin: Hirschwald, 1858.
11. Lehr HA, Saetzler RK, Arfors KE. Microvascular Salvage by Small Volume Resuscitation with Hypertonic Fluids. In: Messmer K, ed. Compromised Perfusion. Basel: Karger, 1996: 167-180.
12. Sommerschild HT, Kirkeboen KA. Adenosine and cardioprotection during ischaemia and reperfusion—an overview. *Acta Anaesthesiol Scand* 2000;**44**(9):1038-55.

13. Chan RK, Ibrahim SI, Verna N, Carroll M, Moore FD, Jr., Hechtman HB. Ischaemia-reperfusion is an event triggered by immune complexes and complement. *Br J Surg* 2003;**90**(12):1470-8.
14. Riedemann NC, Ward PA. Complement in ischemia reperfusion injury. *Am J Pathol* 2003;**162**(2):363-7.
15. Fiane AE, Videm V, Lingaas PS, Heggelund L, Nielsen EW, Geiran OR, Fung M, Mollnes TE. Mechanism of complement activation and its role in the inflammatory response after thoracoabdominal aortic aneurysm repair. *Circulation* 2003;**108**(7):849-56.
16. von Andrian UH, Chambers JD, McEvoy LM, Bargatze RF, Arfors KE, Butcher EC. Two-step model of leukocyte-endothelial cell interaction in inflammation: distinct roles for LECAM-1 and the leukocyte beta 2 integrins in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;**88**(17):7538-42.
17. Richter J. Effect of adenosine analogues and cAMP-raising agents on TNF-, GM-CSF-, and chemotactic peptide-induced degranulation in single adherent neutrophils. *J Leukoc Biol* 1992;**51**(3):270-5.
18. Jaeschke H, Farhood A, Smith CW. Neutrophils contribute to ischemia/reperfusion injury in rat liver in vivo. *Faseb J* 1990;**4**(15):3355-9.
19. Vedder NB, Winn RK, Rice CL, Chi EY, Arfors KE, Harlan JM. A monoclonal antibody to the adherence-promoting leukocyte glycoprotein, CD18, reduces organ injury and improves survival from hemorrhagic shock and resuscitation in rabbits. *J Clin Invest* 1988;**81**(3):939-44.
20. Hernandez LA, Grisham MB, Twohig B, Arfors KE, Harlan JM, Granger DN. Role of neutrophils in ischemia-reperfusion-induced microvascular injury. *Am J Physiol* 1987;**253**(3 Pt 2):H699-703.
21. Korthuis RJ, Grisham MB, Granger DN. Leukocyte depletion attenuates vascular injury in postischemic skeletal muscle. *Am J Physiol* 1988;**254**(5 Pt 2):H823-7.
22. Sievert A. Leukocyte depletion as a mechanism for reducing neutrophil-mediated ischemic-reperfusion injury during transplantation. *J Extra Corpor Technol* 2003;**35**(1):48-52.
23. Spark JI, Scott DJ. Role of the neutrophil in the development of systemic inflammatory response syndrome and sepsis following abdominal aortic surgery. *Br J Surg* 2001;**88**(12):1583-9.
24. Mauritz W, Schimetta W, Oberreither S, Polz W. Are hypertonic hyperoncotic solutions safe for prehospital small-volume resuscitation? Results of a prospective observational study. *Eur J Emerg Med* 2002;**9**(4):315-9.

25. Vassar MJ, Fischer RP, O'Brien PE, Bachulis BL, Chambers JA, Hoyt DB, Holcroft JW. A multicenter trial for resuscitation of injured patients with 7.5% sodium chloride. The effect of added dextran 70. The Multicenter Group for the Study of Hypertonic Saline in Trauma Patients. *Arch Surg* 1993;**128**(9):1003-11; discussion 1011-3.
26. Bueno R, Resende AC, Melo R, Neto VA, Stolf NA. Effects of hypertonic saline-dextran solution in cardiac valve surgery with cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2004;**77**(2):604-11; discussion 611.
27. Oliveira RP, Weingartner R, Ribas EO, Moraes RS, Friedman G. Acute haemodynamic effects of a hypertonic saline/dextran solution in stable patients with severe sepsis. *Intensive Care Med* 2002;**28**(11):1574-81.
28. Bayir H, Clark RS, Kochanek PM. Promising strategies to minimize secondary brain injury after head trauma. *Crit Care Med* 2003;**31**(1 Suppl):S112-7.
29. Rocha ESR, Caneo LF, Lourenco Filho DD, Jatene MB, Barbero-Marcial M, Oliveira SA, Rocha ESM. First use of hypertonic saline dextran in children: a study in safety and effectiveness for atrial septal defect surgery. *Shock* 2003;**20**(5):427-30.
30. Drazner MH, Palmer BF. Hypertonic saline: a novel therapy for advanced heart failure? *Am Heart J* 2003;**145**(3):377-9.
31. Senturk S. Effects of a hypertonic saline solution and dextran 70 combination in the treatment of diarrhoeic dehydrated calves. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2003;**50**(2):57-61.
32. Kreimeier U, Messmer K. Small-volume resuscitation: from experimental evidence to clinical routine. Advantages and disadvantages of hypertonic solutions. *Acta Anaesthesiol Scand* 2002;**46**(6):625-38.
33. Kreimeier U, Prueckner S. Small-volume resuscitation from hemorrhagic shock by hypertonic saline dextran – conceptual basis and historical background. *Eur Surg Res* 2002;**34**(1-2):138-44.
34. Boldt J, Zickmann B, Ballesteros M, Herold C, Dapper F, Hempelmann G. Cardiorespiratory responses to hypertonic saline solution in cardiac operations. *Ann Thorac Surg* 1991;**51**(4):610-5.
35. de Felipe J, Jr., Timoner J, Velasco IT, Lopes OU, Rocha-e-Silva M, Jr. Treatment of refractory hypovolaemic shock by 7.5% sodium chloride injections. *Lancet* 1980;**2**(8202):1002-4.

36. Kreimeier U, Bruckner UB, Niemczyk S, Messmer K. Hyperosmotic saline dextran for resuscitation from traumatic-hemorrhagic hypotension: effect on regional blood flow. *Circ Shock* 1990;**32**(2):83-99.
37. Dubick MA, Wade CE. A review of the efficacy and safety of 7.5% NaCl/6% dextran 70 in experimental animals and in humans. *J Trauma* 1994;**36**(3):323-30.
38. Wade CE, Kramer GC, Grady JJ, Fabian TC, Younes RN. Efficacy of hypertonic 7.5% saline and 6% dextran-70 in treating trauma: a meta-analysis of controlled clinical studies. *Surgery* 1997;**122**(3):609-16.
39. Kreimeier U, Frey L, Dentz J, Herbel T, Messmer K. Hypertonic saline dextran resuscitation during the initial phase of acute endotoxemia: effect on regional blood flow. *Crit Care Med* 1991;**19**(6):801-9.
40. Hannemann L, Reinhart K, Korell R, Spies C, Bredle DL. Hypertonic saline in stabilized hyperdynamic sepsis. *Shock* 1996;**5**(2):130-4.
41. Coimbra R, Hoyt DB, Junger WG, Angle N, Wolf P, Loomis W, Evers MF. Hypertonic saline resuscitation decreases susceptibility to sepsis after hemorrhagic shock. *J Trauma* 1997;**42**(4):602-6; discussion 606-7.
42. Christ F, Niklas M, Kreimeier U, Lauterjung L, Peter K, Messmer K. Hyperosmotic-hyperoncotic solutions during abdominal aortic aneurysm (AAA) resection. *Acta Anaesthesiol Scand* 1997;**41**(1 Pt 1):62-70.
43. Mattox KL, Maningas PA, Moore EE, Mateer JR, Marx JA, Aprahamian C, Burch JM, Pepe PE. Prehospital hypertonic saline/dextran infusion for post-traumatic hypotension. The U.S.A. Multicenter Trial. *Ann Surg* 1991;**213**(5):482-91.
44. Nolte D, Bayer M, Lehr HA, Becker M, Krombach F, Kreimeier U, Messmer K. Attenuation of postischemic microvascular disturbances in striated muscle by hyperosmolar saline dextran. *Am J Physiol* 1992;**263**(5 Pt 2):H1411-6.
45. Angle N, Hoyt DB, Cabello-Passini R, Herdon-Remelius C, Loomis W, Junger WG. Hypertonic saline resuscitation reduces neutrophil margination by suppressing neutrophil L selectin expression. *J Trauma* 1998;**45**(1):7-12; discussion 12-3.
46. Rizoli SB, Kapus A, Fan J, Li YH, Marshall JC, Rotstein OD. Immunomodulatory effects of hypertonic resuscitation on the development of lung inflammation following hemorrhagic shock. *J Immunol* 1998;**161**(11):6288-96.
47. Pascual JL, Khwaja KA, Ferri LE, Giannias B, Evans DC, Razek T, Michel RP, Christou NV. Hypertonic saline resuscitation attenuates neutrophil lung sequestration and transmigration by diminishing leukocyte-endothelial interactions in a two-hit model of hemorrhagic shock and infection. *J Trauma* 2003;**54**(1):121-30; discussion 130-2..

48. Sitkovsky MV, Lukashev D, Apasov S, Kojima H, Koshiba M, Caldwell C, Ohta A, Thiel M. Physiological Control of Immune Response and Inflammatory Tissue Damage by Hypoxia-Inducible Factors and Adenosine A2A Receptors*. *Annu Rev Immunol* 2004;**22**:657-82.
49. Ontyd J, Schrader J. Measurement of adenosine, inosine, and hypoxanthine in human plasma. *J Chromatogr* 1984;**307**(2):404-9.
50. Hagemeyer E, Kemper K, Boos KS, Schlimme E. On-line high-performance liquid affinity chromatography-high-performance liquid chromatography analysis of monomeric ribonucleoside compounds in biological fluids. *J Chromatogr* 1983;**282**:663-9.
51. Chouker A, Martignoni A, DaSilva L, Diem H, Christ F, Peter K, Thiel M. Cryopreservation of reduced cytochrome C for determination of N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine-stimulated superoxide anion production in human whole blood. *Eur J Appl Physiol* 2002;**87**(4-5):365-72.
52. Markert M, Andrews PC, Babior BM. Measurement of O₂- production by human neutrophils. The preparation and assay of NADPH oxidase-containing particles from human neutrophils. *Methods Enzymol* 1984;**105**:358-65.
53. Krump E, Nikitas K, Grinstein S. Induction of tyrosine phosphorylation and Na⁺/H⁺ exchanger activation during shrinkage of human neutrophils. *J Biol Chem* 1997;**272**(28):17303-11.
54. Thiel M, Buessecker F, Eberhardt K, Chouker A, Setzer F, Kreimeier U, Arfors KE, Peter K, Messmer K. Effects of hypertonic saline on expression of human polymorphonuclear leukocyte adhesion molecules. *J Leukoc Biol* 2001;**70**(2):261-73.
55. Chouker A, Martignoni A, Schauer RJ, Rau HG, Volk A, Heizmann O, Dugas M, Messmer K, Peter K, Thiel M. Ischemic preconditioning attenuates portal venous plasma concentrations of purines following warm liver ischemia in man. Accepted for publication by *Eur Surg Res*, in press
56. Muller MJ, Bosy-Westphal A, Kutzner D, Heller M. Metabolically active components of fat-free mass and resting energy expenditure in humans: recent lessons from imaging technologies. *Obes Rev* 2002;**3**(2):113-22.
57. Stanley WC, Chandler MP. Energy metabolism in the normal and failing heart: potential for therapeutic interventions. *Heart Fail Rev* 2002;**7**(2):115-30.
58. Mori E, del Zoppo GJ, Chambers JD, Copeland BR, Arfors KE. Inhibition of polymorphonuclear leukocyte adherence suppresses no-reflow after focal cerebral ischemia in baboons. *Stroke* 1992;**23**(5):712-8.

59. Carden DL, Smith JK, Korthuis RJ. Neutrophil-mediated microvascular dysfunction in postischemic canine skeletal muscle. Role of granulocyte adherence. *Circ Res* 1990;**66**(5):1436-44.
60. Corso CO, Okamoto S, Leiderer R, Messmer K. Resuscitation with hypertonic saline dextran reduces endothelial cell swelling and improves hepatic microvascular perfusion and function after hemorrhagic shock. *J Surg Res* 1998;**80**(2):210-20.
61. Thiel M, Imendorffer S, Chouker A, Groh J, Briegel J, Anthuber M, Kramling HJ, Arfors KE, Peter K, Messmer K. Expression of adhesion molecules on circulating polymorphonuclear leukocytes during orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 1998;**28**(6):1538-50.
62. Ala A, Dhillon AP, Hodgson HJ. Role of cell adhesion molecules in leukocyte recruitment in the liver and gut. *Int J Exp Pathol* 2003;**84**(1):1-16.
63. Vedder NB, Winn RK, Rice CL, Chi EY, Arfors KE, Harlan JM. Inhibition of leukocyte adherence by anti-CD18 monoclonal antibody attenuates reperfusion injury in the rabbit ear. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;**87**(7):2643-6.
64. Kohtani T, Abe Y, Sato M, Miyauchi K, Kawachi K. Protective effects of anti-neutrophil antibody against myocardial ischemia/reperfusion injury in rats. *Eur Surg Res* 2002;**34**(4):313-20.
65. Barry MC, Kelly C, Burke P, Sheehan S, Redmond HP, Bouchier-Hayes D. Immunological and physiological responses to aortic surgery: effect of reperfusion on neutrophil and monocyte activation and pulmonary function. *Br J Surg* 1997;**84**(4):513-9.
66. Pascual JL, Ferri LE, Seely AJ, Campisi G, Chaudhury P, Giannias B, Evans DC, Razek T, Michel RP, Christou NV. Hypertonic saline resuscitation of hemorrhagic shock diminishes neutrophil rolling and adherence to endothelium and reduces in vivo vascular leakage. *Ann Surg* 2002;**236**(5):634-42.
67. Angle N, Cabello-Passini R, Hoyt DB, Loomis WH, Shreve A, Namiki S, Junger WG. Hypertonic saline infusion: can it regulate human neutrophil function? *Shock* 2000;**14**(5):503-8.
68. Deitch EA, Shi HP, Feketeova E, Hauser CJ, Xu DZ. Hypertonic saline resuscitation limits neutrophil activation after trauma-hemorrhagic shock. *Shock* 2003;**19**(4):328-33.
69. Rest RF. Measurement of human neutrophil respiratory burst activity during phagocytosis of bacteria. *Methods Enzymol* 1994;**236**:119-36.

70. Rossi F, Grzeskowiak M, Della Bianca V. Double stimulation with FMLP and Con A restores the activation of the respiratory burst but not of the phosphoinositide turnover in Ca²⁺-depleted human neutrophils. A further example of dissociation between stimulation of the NADPH oxidase and phosphoinositide turnover. *Biochem Biophys Res Commun* 1986;**140**(1):1-11.
71. Parodi JC, Ferreira LM, Fornari MC, Berardi VE, Diez RA. Neutrophil respiratory burst activity and pro- and anti-inflammatory cytokines in AAA surgery: conventional versus endoluminal treatment. *J Endovasc Ther* 2001;**8**(2):114-24.
72. Shields CJ, O'Sullivan AW, Wang JH, Winter DC, Kirwan WO, Redmond HP. Hypertonic saline enhances host response to bacterial challenge by augmenting receptor-independent neutrophil intracellular superoxide formation. *Ann Surg* 2003;**238**(2):249-57.
73. Fahrner SL, Shackford SR, Bourguignon P, Bednar M, Shatney-Leach L. Effect of medium tonicity and dextran on neutrophil function in vitro. *J Trauma* 2002;**52**(2):285-92.
74. Sato N, Kashima K, Shimizu H, Uehara Y, Shimomura Y, Mori M. Hypertonic glucose inhibits the production of oxygen-derived free radicals by rat neutrophils. *Life Sci* 1993;**52**(18):1481-6.
75. Shields CJ, Winter DC, Manning BJ, Wang JH, Kirwan WO, Redmond HP. Hypertonic saline infusion for pulmonary injury due to ischemia-reperfusion. *Arch Surg* 2003;**138**(1):9-14.
76. Nolte D LH, Messmer K. Dextran and adenosine-coupled dextran reduce postischemic leukocyte adherence in postcapillary venules of the hamster. In: Messmer K, ed. *Capillary Functions and White Cell Interaction*. Basel: Karger, 1991: 103-111.
77. Steinbauer M, Harris AG, Messmer K. Effects of dextran on microvascular ischemia-reperfusion injury in striated muscle. *Am J Physiol* 1997;**272**(4 Pt 2):H1710-6.
78. Corso CO, Okamoto S, Ruttinger D, Messmer K. Hypertonic saline dextran attenuates leukocyte accumulation in the liver after hemorrhagic shock and resuscitation. *J Trauma* 1999;**46**(3):417-23.
79. Markos J, Doerschuk CM, English D, Wiggs BR, Hogg JC. Effect of positive end-expiratory pressure on leukocyte transit in rabbit lungs. *J Appl Physiol* 1993;**74**(6):2627-33.
80. Markos J, Hooper RO, Kavanagh-Gray D, Wiggs BR, Hogg JC. Effect of raised alveolar pressure on leukocyte retention in the human lung. *J Appl Physiol* 1990;**69**(1):214-21.

81. Yoder MC, Checkley LL, Giger U, Hanson WL, Kirk KR, Capen RL, Wagner WW, Jr. Pulmonary microcirculatory kinetics of neutrophils deficient in leukocyte adhesion-promoting glycoproteins. *J Appl Physiol* 1990;**69**(1):207-13.
82. Rosengren S, Henson PM, Worthen GS. Migration-associated volume changes in neutrophils facilitate the migratory process in vitro. *Am J Physiol* 1994;**267**(6 Pt 1):C1623-32.
83. Rizoli SB, Rotstein OD, Kapus A. Cell volume-dependent regulation of L-selectin shedding in neutrophils. A role for p38 mitogen-activated protein kinase. *J Biol Chem* 1999;**274**(31):22072-80.
84. Kuchkina NV, Orlov SN, Pokudin NI, Chuchalin AG. Volume-dependent regulation of the respiratory burst of activated human neutrophils. *Experientia* 1993;**49**(11):995-7.
85. Spera PA, Arfors KE, Vasthare US, Tuma RF, Young WF. Effect of hypertonic saline on leukocyte activity after spinal cord injury. *Spine* 1998;**23**(22):2444-8; discussion 2448-9.
86. Junger WG, Hoyt DB, Davis RE, Herdon-Remelius C, Namiki S, Junger H, Loomis W, Altman A. Hypertonicity regulates the function of human neutrophils by modulating chemoattractant receptor signaling and activating mitogen-activated protein kinase p38. *J Clin Invest* 1998;**101**(12):2768-79.
87. Ciesla DJ, Moore EE, Musters RJ, Biffi WL, Silliman CA. Hypertonic saline alteration of the PMN cytoskeleton: implications for signal transduction and the cytotoxic response. *J Trauma* 2001;**50**(2):206-12.
88. McGann LE, Walterson ML, Hogg LM. Light scattering and cell volumes in osmotically stressed and frozen-thawed cells. *Cytometry* 1988;**9**(1):33-8.
89. Rebecchi IM, Ferreira Novo N, Julian Y, Campa A. Oxidative metabolism and release of myeloperoxidase from polymorphonuclear leukocytes obtained from blood sedimentation in a Ficoll-Hypaque gradient. *Cell Biochem Funct* 2000;**18**(2):127-32.
90. Fearon DT, Collins LA. Increased expression of C3b receptors on polymorphonuclear leukocytes induced by chemotactic factors and by purification procedures. *J Immunol* 1983;**130**(1):370-5.
91. Akira S, Hirano T, Taga T, Kishimoto T. Biology of multifunctional cytokines: IL 6 and related molecules (IL 1 and TNF). *Faseb J* 1990;**4**(11):2860-7.
92. Heath DI, Cruickshank A, Gudgeon M, Jehanli A, Shenkin A, Imrie CW. Role of interleukin-6 in mediating the acute phase protein response and potential as an early means of severity assessment in acute pancreatitis. *Gut* 1993;**34**(1):41-5.

93. Schluter B, Raufhake C, Erren M, Schotte H, Kipp F, Rust S, Van Aken H, Assmann G, Berendes E. Effect of the interleukin-6 promoter polymorphism (-174 G/C) on the incidence and outcome of sepsis. *Crit Care Med* 2002;**30**(1):32-7.
94. Odegard A, Lundbom J, Myhre HO, Hatlinghus S, Bergh K, Waage A, Bjerve KS, Mollnes TE, Aadahl P, Lie TA, Videm V. The inflammatory response following treatment of abdominal aortic aneurysms: a comparison between open surgery and endovascular repair. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2000;**19**(5):536-44.
95. Baigrie RJ, Lamont PM, Kwiatkowski D, Dallman MJ, Morris PJ. Systemic cytokine response after major surgery. *Br J Surg* 1992;**79**(8):757-60.
96. Holzheimer RG, Gross J, Schein M. Pro- and anti-inflammatory cytokine-response in abdominal aortic aneurysm repair: a clinical model of ischemia-reperfusion. *Shock* 1999;**11**(5):305-10.
97. Rowlands TE, Homer-Vanniasinkam S. Pro- and anti-inflammatory cytokine release in open versus endovascular repair of abdominal aortic aneurysm. *Br J Surg* 2001;**88**(10):1335-40.
98. Galle C, De Maertelaer V, Motte S, Zhou L, Stordeur P, Delville JP, Li R, Ferreira J, Goldman M, Capel P, Wautrecht JC, Pradier O, Dereume JP. Early inflammatory response after elective abdominal aortic aneurysm repair: a comparison between endovascular procedure and conventional surgery. *J Vasc Surg* 2000;**32**(2):234-46.
99. Matsushima K, Oppenheim JJ. Interleukin 8 and MCAF: novel inflammatory cytokines inducible by IL 1 and TNF. *Cytokine* 1989;**1**(1):2-13.
100. Gimbrone MA, Jr., Obin MS, Brock AF, Luis EA, Hass PE, Hebert CA, Yip YK, Leung DW, Lowe DG, Kohr WJ, et al. Endothelial interleukin-8: a novel inhibitor of leukocyte-endothelial interactions. *Science* 1989;**246**(4937):1601-3.
101. Sekido N, Mukaida N, Harada A, Nakanishi I, Watanabe Y, Matsushima K. Prevention of lung reperfusion injury in rabbits by a monoclonal antibody against interleukin-8. *Nature* 1993;**365**(6447):654-7.
102. Huber AR, Kunkel SL, Todd RF, 3rd, Weiss SJ. Regulation of transendothelial neutrophil migration by endogenous interleukin-8. *Science* 1991;**254**(5028):99-102.
103. Welbourn CR, Goldman G, Paterson IS, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. *Br J Surg* 1991;**78**(6):651-5.

104. Cavanagh SP, Gough MJ, Homer-Vanniasinkam S. The role of the neutrophil in ischaemia-reperfusion injury: potential therapeutic interventions. *Cardiovasc Surg* 1998;**6**(2):112-8.
105. Raijmakers PG, Groeneveld AB, Rauwerda JA, Schneider AJ, Teule GJ, Hack CE, Thijs LG. Transient increase in interleukin-8 and pulmonary microvascular permeability following aortic surgery. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;**151**(3 Pt 1):698-705.
106. Vanni HE, Gordon BR, Levine DM, Sloan BJ, Stein DR, Yurt RW, Saal SD, Parker TS. Cholesterol and interleukin-6 concentrations relate to outcomes in burn-injured patients. *J Burn Care Rehabil* 2003;**24**(3):133-41..
107. Pallua N, Low JF, von Heimburg D. Pathogenic role of interleukin-6 in the development of sepsis. Part II: Significance of anti-interleukin-6 and anti-soluble interleukin-6 receptor-alpha antibodies in a standardized murine contact burn model. *Crit Care Med* 2003;**31**(5):1495-501.
108. Pinsky MR, Vincent JL, Deviere J, Alegre M, Kahn RJ, Dupont E. Serum cytokine levels in human septic shock. Relation to multiple-system organ failure and mortality. *Chest* 1993;**103**(2):565-75.
109. Jones KG, Brull DJ, Brown LC, Sian M, Greenhalgh RM, Humphries SE, Powell JT. Interleukin-6 (IL-6) and the prognosis of abdominal aortic aneurysms. *Circulation* 2001;**103**(18):2260-5.

10. VERÖFFENTLICHTE TEILASPEKTE

Thiel M, Buessecker F, Eberhardt K, Chouker A, Setzer F, Kreimeier U, Arfors KE, Peter K, Messmer K. Effects of hypertonic saline on expression of human polymorphonuclear leukocyte adhesion molecules. *J Leukoc Biol* 2001;**70**(2):261-73.

Setzer F, Chouker A, Irlbeck M, Christ F, Thiel M, Messmer K. Einfluß hypertoner, hyperosmolarer Dextranlösung auf PMNL bei elektiver Bauchortenaneurysktomie: Erste Ergebnisse. *Intensiv- und Notfallmedizin* 2000;**37**, Supplement 2

11. DANKSAGUNG

Die vorliegende Arbeit wurde an der Klinik für Anästhesiologie am Klinikum Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität München angefertigt. Herrn Prof. Dr. Dr. Klaus Peter gilt mein herzlicher Dank für die Überlassung des Themas und die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes im Labor der Klinik.

Entscheidend für das Zustandekommen dieser Arbeit war die unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Frank Christ durchgeführte Studie, weshalb auch ihm mein herzlicher Dank gilt, u.a. auch für die vielfache persönliche Unterstützung, die ich von ihm erfahren habe.

Der größte Dank gilt den Herren Prof. Dr. Manfred Thiel und Dr. Alexander Choukèr, deren großartige Unterstützung erst das Entstehen dieser Arbeit ermöglichte und deren persönliches Engagement mich über all die Zeit (und über tausende Kilometer) nie haben zweifeln lassen, dieses Projekt erfolgreich abzuschließen. Hervorzuheben sind in diesem Zusammenhang auch die gesamten Mitarbeiter des Anästhesie-Labors, sowie meine Mit-Doktoranden, deren freundlicher Unterstützung ich mir zu jeder Zeit sicher sein konnte.

Meine Anerkennung und Dankbarkeit gilt auch allen Menschen und Einrichtungen, die mich während diesem Studium unterstützt haben. Besonders hervorheben möchte ich meine Eltern, meinen Bruder, sowie meine damalige Freundin Doris, die in den Jahren meiner Ausbildung immer für mich da waren, wenn ich sie gebraucht habe.

12. CURRICULUM VITAE

Florian Manuel Setzer, geboren am 09.09.1975 in Erding

Dezember 2003	Assistenzarzt der Klinik für Anästhesie und Intensivtherapie, Klinikum der Friedrich Schiller Universität, Jena
Juni 2002	Arzt im Praktikum der Klinik für Anästhesie und Intensivtherapie, Klinikum der Friedrich Schiller Universität, Jena
6.5.2002	Ärztliche Prüfung
2001 April – 2002 März	Praktisches Jahr, in den Fächern Anästhesie (Klinikum Großhadern) Chirurgie und Innere Medizin (Klinikum Innenstadt)
14.09.2000	Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
27.08.1998	Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
09.09.1997	Physikum
1994	Abitur, Gymnasium Erding
1985	Gymnasium Erding
1982	Einschulung Grundschule Taufkirchen / Vils