Universität Ulm

Institut für Anästhesiologische Pathophysiologie und Verfahrensentwicklung

Leitung: Prof. Dr. med. Dr. med. h.c. Peter Radermacher

Effekte des Schwefelwasserstoff-Donors Natriumthiosulfat ($Na_2S_2O_3$) auf die Hämodynamik und Organfunktion im Langzeitmodell des hämorrhagischen Schocks beim Schwein

Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades der Medizin

der Medizinischen Fakultät

der Universität Ulm

vorgelegt von

Aileen Satari, geb. Huhn

geboren in Gummersbach

2023

Amtierender Dekan: Prof. Dr. Thomas Wirth

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. med. h.c. Peter Radermacher

2. Berichterstatter: PD Dr. med. David Messerer

Tag der Promotion: 11.07.2024

Gewidmet

meinem Mann

Benedick

und

meinen Eltern.

Teile dieser Dissertation sind erschienen in:

Messerer DAC, Gaessler H, Hoffmann A, Gröger M, Benz K, Huhn A, Hezel F, Calzia E, Radermacher P, Datzmann T: The H2S Donor Sodium Thiosulfate (Na2S2O3) Does Not Improve Inflammation and Organ Damage After Hemorrhagic Shock in Cardiovascular Healthy Swine. Front Immunol., 13: 901005 (2022)
DOI: 10.3389/fimmu.2022.901005
Lizenz: CC BY 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

I. INHALTSVERZEICHNIS

I. INHALTSVERZEICHNIS V
II. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS VII

1 EINLEITUNG 1

1.1 Der hämorrhagische Schock 1

1.1.1 Problematik des hämorrhagischen Schocks 1

1.1.2 Pathophysiologie des hämorrhagischen Schocks 2

1.2 Schwefelwasserstoff 5

1.2.1 Schwefelwasserstoff in der Medizin 5

1.2.2 Natriumthiosulfat führt zur Freisetzung von Schwefelwasserstoff 8

1.3 Fragestellung 9

2 MATERIAL UND METHODEN 11

2.1 Versuchstiere 11

2.2 Materialliste 12

2.3 Methoden 20

2.3.1 Versuchsablauf 20

2.3.1.1 Versuchsvorbereitung 20

2.3.1.2 Anästhesie, Instrumentierung und Ruhephase 20

2.3.1.3 Schockphase 23

2.3.1.4 Interventions- und Intensivüberwachungsphase 24

2.3.1.5 Experimentbeendigung 26

2.3.2 Messungen 26

2.3.2.1 Hämodynamik 27

2.3.2.2 Beatmungsparameter und Lungenfunktion 28

2.3.2.3 Blutgasanalysen und Metabolismus 28

2.3.2.4 Blutbild 30

2.3.2.5 Nierenfunktion 30

2.3.2.6 Leberfunktion 31

2.3.2.7 Konzentrations-Monitoring Sulfid 33

2.3.3 Statistische Analyse 34

3 ERGEBNISSE 36

3.1 Allgemeine Daten 36

3.2 Sulfid-Konzentration 38

3.3 Hämodynamik und Noradrenalin-Bedarf 39

3.4 Beatmung und Lungenfunktion 45

3.5 Blutgasanalyse und Metabolismus 47

3.6 Blutbild 50
3.7 Nierenfunktion 51
3.8 Leberfunktion 53
3.9 Mortalität 53
4 DISKUSSION 55
4.1 Das Versuchsmodell 55
4.2 Die Studienergebnisse 56
4.2.1 Sulfid-Konzentration 56
4.2.2 Hämodynamik und Noradrenalin-Bedarf 57
4.2.3 Beatmung und Lungenfunktion 58
4.2.4 Blutgasanalyse und Metabolismus 59
4.2.5 Blutbild 60
4.2.6 Nieren- und Leberfunktion 61
4.2.7 Mortalität 61
4.3 Kontroverse zum Studienmodell 62
4.4 Schlussfolgerung der Studie 64
5. ZUSAMMENFASSUNG 65
6. LITERATURVERZEICHNIS 67
7. ANHANG 72
III. ABBILDUNGSVERZEICHNIS 72
IV. TABELLENVERZEICHNIS 73
V. DANKSAGUNG 74
VI. LEBENSLAUF 75

II. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

%	Prozent
<	Zeichen für „kleiner“ als
>	Zeichen für „größer“ als
°C	Grad Celsius
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µM	Mikromol
AF	Atemfrequenz
ALT	Alanin-Aminotransferase
AMV	Atemminutenvolumen
AP39	[(10-oxo-10-(4-(3-thioxo-3H-1,2-dithiol-5yl)phenoxy)decyl) Triphenyl Phosphonium Bromid]
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrom, z. Dt. Akutes Lungenversagen
AST	Aspartat-Aminotransferase
ATC	Akut traumatische Koagulopathie
ATP	Adenosintriphosphat
BE	Base Excess, z. Dt. Basenüberschuss
BGA	Blutgasanalyse
BMW	Bretoncelles-Meishan-Willebrand
bpm	Beats per minute, z.Dt . Schläge pro Minute
cmH_2O	Zentimeter Wassersäule
CSE	Cystathionin-γ-Lyase
dl	Deziliter
EKG	Elektrokardiogramm
et al.	und Kollegen
F	French
F_iO_2	Inspiratorische O_2-Fraktion
g	Gramm

GC/MS	Modifizierte Gaschromatographie gekoppelt mit einer Massenspektrometrie nach Kage
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
h	Stunde
H_2O_2	Wasserstoffperoxid
H_2S	Schwefelwasserstoff
HF	Herzfrequenz
HS	Hämorrhagischer Schock
HZV	Herzzeitvolumen
I:E-Verhältnis	Inspirations-/ Exspirations-Verhältnis
IC	Iatrogene, therapie-bedingte Koagulopathie
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
l	Liter
MAP	Mittlerer arterieller Blutdruck
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter-Quecksilbersäule
mmol	Millimol
MP	Messpunkt
n	Fallzahl
$Na_2S_2O_3$	Natriumthiosulfat
NaCl	Natriumchlorid
NAD^+ bzw. $NADH+H^+$	Nicotinamidadenindinukleotid
n.e.	Nicht erhoben
NF-κB	Nuclear factor kappa B
NO	Stickstoffmonoxid
p_aCO_2	Kohlenstoffdioxid-Partialdruck
p_aO_2	Sauerstoff-Partialdruck
PEEP	Positiver endexspiratorischer Druck

PiCCO®	Pulse Contour Cardiac Output, z. Dt. Pulskontur-Herzzeitvolumen
pPeak	Atemspitzendruck
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
RQ	Respiratorischer Quotient
sek	Sekunden
SV	Schlagvolumen
SVV	Schlagvolumenvariation
TNF-α	Tumornekrosefaktor-alpha
U	Unit
u.a.	Unter anderem
VCO_{2max}	Maximale Kohlendioxidabgabe
VO_{2max}	Maximale Sauerstoffaufnahme
z. Dt.	Zu Deutsch
z.B.	Zum Beispiel
ZVD	Zentralvenöser Druck
ZVK	Zentraler Venenkatheter

1 EINLEITUNG

In dieser Dissertation wurde untersucht, ob der Schwefelwasserstoff-Donor Natriumthiosulfat ($Na_2S_2O_3$) einen positiven Einfluss auf das Gesamtüberleben sowie die Organfunktionen von Schweinen im hämorrhagischen Schock (HS) hat.

1.1 Der hämorrhagische Schock

1.1.1 Problematik des hämorrhagischen Schocks

Hämorrhagie ist eine der Haupttodesursachen bei Traumapatienten/-innen. In den letzten Jahren haben sich die Verletzungsmuster zum Beispiel (z.B.) im Krieg in Afghanistan und Irak zu Gunsten anderer Verletzungsmuster verändert (z.B. das vermehrte Auftreten von Schädel-Hirn-Verletzungen) [12] und dennoch bleibt die Hämorrhagie eine gefürchtete Verletzung. An abgelegenen Orten stellt der HS aufgrund von verzögerter Transportmöglichkeit, eingeschränkter Materialverfügbarkeit [57] sowie eingeschränkter Therapiemöglichkeit eine große Herausforderung dar. Champion et al. zeigten anhand einer Auswertung von Verletzungen in Militäreinsätzen, dass ein unkontrollierbares Verbluten innerhalb von fünf bis zehn Minuten zum Versterben führte. Für die Betroffenen, welche nicht direkt verstarben, ergab sich ein Zeitfenster von vier bis sechs Stunden, in welchem eine definitive Versorgung stattfinden musste um das Überleben zu sichern [8]. Ein Großteil der Soldaten/-innen verstarb jedoch präklinisch beziehungsweise (bzw.) kurz nach Eintreffen in der Versorgungseinrichtung [48]. Sobrino et Shafi zeigten, dass sich die Anzahl der sofortigen und frühe Todesfälle über die letzten Jahrzehnte nicht verringert hat. Sofortige Todesfälle schließt dabei ein Versterben an der Unfallstelle und kurz nach Erreichen der Versorgungseinrichtung ein. Als frühe Todesfälle wird ein Versterben innerhalb von 24h nach Ausschluss der sofortigen Todesfälle bezeichnet. In beiden Gruppen deuten sich konstante Zahlen über die letzten Jahre an (50 - 60% direkte Todesfälle und 25 - 30% frühe Todesfälle). Und das, trotz Verbesserung des Rettungswesens, der präklinischen Versorgung und der allgemeinen Unfallprävention, insbesondere im Straßenverkehr [50].

Das Hauptziel der präklinischen medizinischen Behandlung besteht aus einer frühen Blutungskontrolle und dem Aufrechterhalten der Vitalfunktionen bis ein gesicherter und stabiler Transport garantiert werden kann. Mit dem traumatischen HS gehen nicht nur hohe Kosten im Sektor der Akutmedizin einher [40], sondern auch im Sektor der

Rehabilitation. Zudem leiden Patienten/-innen und Angehörige im Anschluss eines Traumas häufig unter psychischen Folgen [21]. Daher sind weiterführende Studien zur Traumabehandlung notwendig, um bessere Therapien zu entwickeln und um das Outcome nach einem traumatischen Ereignis zu verbessern.

1.1.2 Pathophysiologie des hämorrhagischen Schocks

Der Schock ist ein Missverhältnis zwischen Sauerstoffangebot und Sauerstoffverbrauch der Organe auf zellulärer Ebene [6]. Er wird in vier Gruppen unterteilt: der distributive, kardiogene, obstruktive und hypovolämische Schock. Der HS gehört aufgrund des Volumenverlustes zum hypovolämischen Schock. Es kommt durch die akute Blutung zu einer Organminderperfusion mit Mikrozirkulationsstörungen. Durch die Gewebehypoxie und die verringerte kardiale Vorlast wird unter anderem der Sympathikus aktiviert. Dieser schüttet Adrenalin und Noradrenalin aus dem Nebennierenmark aus. Die Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin bewirken eine Zunahme der Herz- und Atemfrequenz und führen zu einer Vasokonstriktion. Außerdem kommt es zur Ausschüttung der Stresshormone Antidiuretisches-Hormon, Adrenocorticotropin und Cortisol sowie zur Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems. Ca. 30 % Verlust des Gesamtblutvolumens können zu einer Tachykardie, Hypotonie und zu einem beeinträchtigten Bewusstseinsstatus führen [37]. Entsprechend liegt die Grenze der körpereigenen Kompensationsmechanismen bei ungefähr 30 % Blutverlust. Unter einem erhöhten Volumenverlust von > 30 % kommt es zu einem verminderten Herzzeitvolumen (HZV) mit refraktärer Hypotonie. Dies aggraviert die folgenden Effekte.

- Zentralisation der Makrozirkulation, um die Blutversorgung der lebenswichtigen Organe wie Gehirn und Herz sicherzustellen [1]
- Minderperfusion mit Zellhypoxie in den peripheren Organen (unter anderem Haut, Muskulatur, Splanchnikusgebiet sowie Nieren) [1]
- Akkumulation von toxischen Substanzen: durch die Makro- und Mikrozirkulation erreicht zu wenig Sauerstoff die Zellen, wodurch die mitochondriale oxidative Phosphorylierung zum Erliegen kommt. Reduktive Verbindungen (GSH, NAD, NADPH, Superoxiddismutasen, Peroxidasen) werden nicht mehr aufgebraucht bzw. reaktiviert. Es folgt eine Energiegewinnung mittels Glykolyse und ein Anfallen von Laktat und reaktiven Sauerstoffspezies (ROS).

- Akkumulation von renal ausscheidungspflichtigen Substanzen aufgrund der verminderten ATP-Menge sowie der verminderten renalen Perfusion.
- Gestörte Mikrozirkulation durch eine präkapillär bestehende Vasodilatation (um der Minderdurchblutung entgegenzuwirken) und eine postkapillär bestehende Vasokonstriktion (durch die ausgeschütteten Katecholamine). Das Blut sammelt sich im Kapillarbett an, verstärkt die Hypoxie und es kann zur Bildung von Mikrothromben kommen [6].
- Aktivierung des körpereigenen Gerinnungssystems, sowohl durch die Mikrothromben als auch durch den trauma-induzierten Gewebedefekt [14; 46].

Auch therapeutische Maßnahmen wie die Transfusion von Blutprodukten sowie die Volumengabe beeinflussen das Gerinnungssystem maßgeblich [35]. Das Endothel unterliegt einer zunehmenden Permeabilitätsstörung [6]. Man spricht aufgrund der sich gegenseitig bestärkenden Phänomene auch von der „Schockspirale“, die, laut Moore 1996, aus den folgenden drei Hauptfaktoren besteht: Koagulopathie, Hypothermie und Azidose [35]. Die drei Hauptfaktoren interferieren miteinander und können in einer progressiven Koagulopathie münden. Diese wiederum unterhält die akute Hämorrhagie. Am Ende der Spirale steht das Multiorganversagen mit dem Tod der Betroffenen [35].

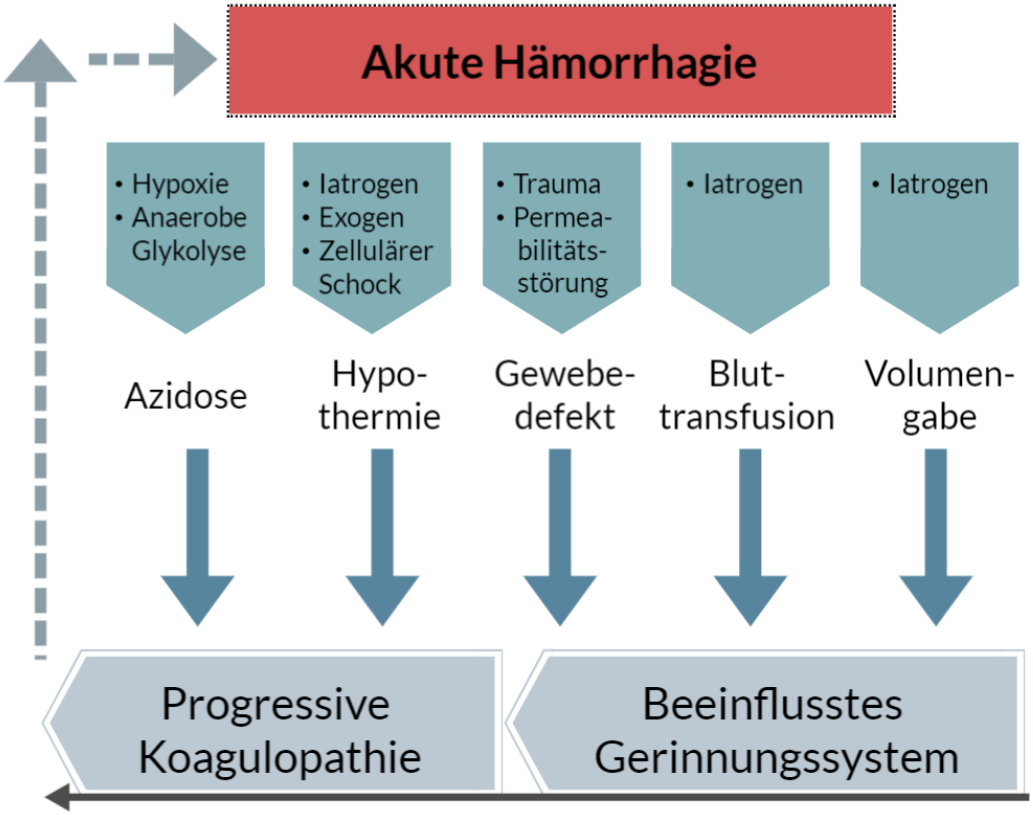

Abbildung 1: Schematische Darstellung der „Schockspirale". Gezeichnet von A. Satari in Anlehnung an den „bloody vicious cycle" von Moore, 1996 [35]. Universität Ulm, 2023.

Einige Autoren/-innen differenzieren die Koagulopathie in die frühe Phase der akuten traumatischen Koagulopathie (ATC) [14] und in die spätere multifaktorielle iatrogene und therapie-bedingte Koagulopathie (IC) [24]. Der Gewebedefekt sowie der Blutverlust bedingen die ATC wie oben beschrieben. Die ATC tritt bereits nach wenigen Minuten in einer Großzahl der Traumapatienten/-innen auf. Floccard et al. zeigten, dass der Gerinnungsstatus in 60 % der Patienten/-innen nach einem Trauma bereits vor Eintreffen im Krankenhaus verändert war. Maßgeblich für die ATC ist die Schwere des Gewebeschadens [14] sowie die Ausprägung der Hypoperfusion [5]. Verschiedene Faktoren wie der Schock, die Beeinflussung des Gerinnungssystems, die Hypothermie, die Azidose und die Inflammation beeinflussen die IC in ihrer Ausprägung sekundär [13]. Diese Art der Koagulopathie ist das Resultat vieler eigenständiger Mechanismen, welche miteinander interagieren [17] und eine Progression provozieren. Wichtig in diesem Zusammenhang ist, dass weiterhin die Haupttriade aus Koagulopathie, Azidose und

Hypothermie, genauso wie Moore es bereits 1996 beschrieben hatte [35], maßgeblich das Überleben beeinflussen [13] und stets mögliche Angriffspunkte der Therapien darstellen.

Zusätzlich kann es im zeitlichen Verlauf zur Ausbildung einer abakteriellen systemischen Entzündungsreaktion kommen, welche durch die Ausschüttung zahlreicher Mediatoren bedingt wird. Unter anderem steigt die Nuclear factor kappa B-Aktivierung und es werden vermehrt inflammatorische Zytokine produziert und ausgeschüttet (Tumornekrosefaktor-alpha (TNF-α), Interleukin-1, Interleukin-6 und Interleukin-8 und weitere). Die Produktion an Sauerstoffmonoxid (NO) ist erhöht und es kommt zu einer gesteigerten Expression der induzierbaren NO-Synthase (iNOS) [34]. Diese Mediatoren unterhalten u.a. den Inflammationsprozess, welcher häufig in einer Organdysfunktion mit multiplem Organversagen endet [46]. NO selbst wirkt vasodilatatorisch und antithrombogen [22]. Die ausgeschütteten Mediatoren bieten jedoch auch gleichzeitig einen Angriffspunkt in der Therapie der Folgeschäden des hämorrhagischen Schocks.

1.2 Schwefelwasserstoff

Schwefelwasserstoff (H_2S) ist ein allgegenwärtiges Gas. Zu finden ist es in organischer Form, produziert durch Bakterien oder durch die Zersetzung organischen Materials. Als anorganische Verbindung kommt Schwefelwasserstoff z.B. in Schwefelquellen, durch vulkanische Aktivität sowie in der Industrie vor [26]. Es ist ein farbloses, entzündbares und wasserlösliches Gas, welches in niedrigen Konzentrationen charakteristisch nach faulen Eiern riecht [53]. In der Vergangenheit ist H_2S insbesondere durch seine toxischen Eigenschaften bekannt geworden. Kage et al. schilderten Fallberichte von Vergiftungen durch H_2S u.a. in der Färbeindustrie [18] und bei Arbeiten auf Mülldeponien [19]. H_2S ist jedoch auch im menschlichen und tierischen Organismus zu finden [20]. Dabei übt H_2S als endogenes Signalmolekül vielfältige Funktionen aus und reguliert biologische Prozesse wie die Inflammation, den Gefäßtonus, die ROS-Produktion und die Apoptose [26; 30]. H_2S gehört neben Stickstoff- und Kohlenmonoxid zur Familie der Gasotransmitter [58].

1.2.1 Schwefelwasserstoff in der Medizin

Schwefelwasserstoff wird endogen im menschlichen Organismus gebildet. Dabei entsteht H_2S aus der Aminosäure Cystein gebildet durch die Enzyme Cystathionin-γ-Lyase (CSE), Cystathionin-β-Synthetase (CBS) und 3-Mercaptopyruvat-Sulfurtransferase (3-MST) [30;

31; 33]. Da die Konzentration des freien H_2S im Blut gering ist und auch nach exogener Gabe eines H_2S-Donors die Konzentration nur kurz ansteigt und anschließend wieder abfällt kann man davon ausgehen, dass H_2S im Mäusemodel in einen stabilen Metaboliten umgewandelt wird [27]. Schwefelwasserstoff wird durch verschiedene mitochondriale Enzyme zu den Metaboliten Persulfid, Sulfid (SO_3^{2-}), Thiosulfat ($S_2O_3^{2-}$) und Sulfat (SO_4^{2-}) oxidiert [27; 43; 47]. Ob die biologischen Effekte durch H_2S selbst oder durch seine Metabolite ausgeführt werden, ist nicht bekannt [43]. Dabei entstehen sowohl cytoprotektive als auch cytotoxische Effekte [47].

Einem Teil der cytotoxischen Effekte liegt der Mechanismus zugrunde, dass H_2S als reversibler Antagonist an die Cytochrom-C-Oxidase (Komplex IV der Atmungskette) bindet [3]. Damit ist die zelluläre Generierung von Adenosintriphosphat (ATP) gestört, was zu einer funktionellen Hypoxie führt. Die Hypoxie und das ATP-Defizit führen neben der Schädigung besonders sauerstoffabhängiger Organe zu einer Lungenschädigung. Durch pulmonale Vasokonstriktion und beeinträchtigter Clearance von alveolärer Flüssigkeit kommt es im Mäuseversuch zu einem Lungenödem [15]. Die Gefahr besteht besonders bei hohen Konzentrationen [15]. Auch eine Reizung der Mukosa in den Atemwegen konnte bei inhalativer Applikation in der Maus und im Schwein beschrieben werden [15; 28; 49]. Mok und Moore berichteten 2008 über einen proinflammatorischen Effekt durch H_2S. Die Verabreichung des CSE-Inhibitors DL-Propargylglycin (PAG) bei Ratten im HS führte unter anderem zu einer erhöhten Erholungsrate und einer geminderten Konzentration der proinflammatorischen Moleküle TNF-α und Interleukin-6 [34]. Diese Studie stütze sich auf Vorexperimente von Mok et al. [33]. Dabei zeigten sie u.a., dass die vasodilatatorische Wirkung des endogenen H_2S in der Ratte maßgeblich an der Hypotonie im HS beteiligt ist. Sie sahen darüber hinaus in einer CSE-Inhibition einen möglichen Therapieansatz in der Behandlung der Hypotonie im HS in der Ratte [33]. Eine Hypotonie durch direkte Applikation eines H_2S-Donors konnte auch durch institutseigene Versuche nachgewiesen werden. In Mäuseexperimenten von Wepler et al. resultierten in einem Traumaversuch durch die hochdosierte Gabe des H_2S-Donors [(10-oxo-10-(4-(3-thioxo-3H-1,2-dithiol5yl)phenoxy)decyl) Triphenyl Phosphonium Bromid] (AP39) eine erhöhte Mortalität begleitet von Hypotonie und einem erhöhten Noradrenalin-Bedarf. Unter einer niedrigeren Dosis von AP39 waren die systemisch hämodynamischen Effekte in der Maus

nicht nachweisbar und es bestand im Vergleich der hochdosierten Gabe keinen Einfluss auf die Mortalität [54].

Weiterhin werden cytoprotektive Effekte durch Schwefelwasserstoff beschrieben. Seit vielen Jahren ist bekannt, dass eine reduzierte metabolische Aktivität das Outcome in Traumasituationen verbessern konnte, wenn der Verletzung oder der Krankheit eine insuffiziente Blutversorgung zu Grunde lag. Durch den reduzierten Stoffwechsel stieg in Mäusen die Toleranz der Zellen und des Gewebes gegenüber Hypoxie und weiteren Mangelzuständen als Folge des HS [36]. Blackstone et al. zeigten, dass spontan atmende Mäuse in der Folge der Inhalation von H_2S ihre Körpertemperatur und ihren Metabolismus senkten. Sie kamen in einen „hibernation/ suspended animation-like status“, zu Deutsch (z. Dt.) in einen Zustand des „Winterschlafs“ bzw. des „Scheintods“ mit reduziertem Stoffwechsel [3]. Morrison et al. erlangten ähnliche Ergebnisse durch die intravenöse Verabreichung des H_2S-Donors Hydrogensulfid (HS^-) in Ratten. Sie stellten die heute immer noch relevante Hypothese auf, dass Schwefelwasserstoff (unter Kontrolle der toxischen Dosis) im HS als therapeutisches Mittel genutzt werden kann. Insbesondere um dem Patienten/-in Zeit zu verschaffen, bis eine definitive Therapie verfügbar ist [36]. Um eine Übertragbarkeit auf das Großtiermodel zu untersuchen, verabreichte Simon et al. Schweinen den H_2S-Donor Natriumsulfid (Na_2S) intravenös. Dabei zeigten auch Schweine einen verminderten Energieverbrauch [49]. Den H_2S-Donoren Natriumhydrogensulfid (NaHS) und Natriumthiosulfat ($Na_2S_2O_3$) wird ein antiinflammatorischer Effekt durch Reduktion des NF-κB-abhängigen Signalwegs zugesprochen [16; 43]. Sakaguchi et al. untersuchten im Mäusemodel u.a. die intraperitoneale Gabe von $Na_2S_2O_3$ nach Induktion einer akuten Lungenschädigung durch intratracheale Verabreichung von Lipopolysacharid. Durch die Gabe von $Na_2S_2O_3$ kam es zur Reduktion des NF-κB-abhängigen Signalwegs mit einer verminderten Expression von proinflammatorischen Zytokinen, einem verminderten Anstieg der Gefäßpermeabilität und zu einem verminderten Anstieg der Neutrophilen im Gewebe [43]. Gao et al. zeigten in Ratten eine Inhibierung des NF-κB-abhängigen Signalwegs durch intraperitoneale Gabe von NaHS im Model eines HS. Weiterhin führte NaHS zu einem Erhalt der kardialen Funktion, zum Schutz des kardialen Gewebes vor einem Schaden durch den HS, zur Regulierung der myokardialen Enzyme und zu einer gesamten Verbesserung des ultrastrukturellen kardialen Schadens [16].

Weitere kardioprotektive Effekte im HS und in der Reperfusion wurden durch Ravindran et. al. 2017 in Ratten beschrieben. Die Gabe von $Na_2S_2O_3$ intraperitoneal nach der kardialen Reperfusion verminderte die Apoptose, reduzierte den oxidativen Stress und verbesserte die mitochondriale Aktivität [42]. Francis et al. stellten einen indirekten antioxidativen Effekt des H_2S-Donors Natriumsulfid (Na_2S) in der Maus fest, welcher durch die Aktivierung der Nrf2-abhängigen Gentranskription der Antioxidantien entstanden ist. In derselben Studie zeigte die systemische Gabe von Natriumsulfid eine Minderung der Entwicklung eines Beatmungs-assoziierten Lungenschadens durch eben beschriebene antioxidative Effekte [15]. Chai et al. beschrieben in Ratten einen geringeren Organschaden und eine geringere Mortalität während des HS und der Wiederbelebung durch die Natriumhydrogensulfid-Applikation, welche einen Abfall des antioxidativen Systems verhinderte [7].

Insgesamt gibt es im Forschungsgebiet des Schwefelwasserstoffs und dessen Donoren unterschiedlichste Ergebnisse. Datzmann et al. sowie Wepler et al. gehen davon aus, dass die unterschiedlichen Ergebnisse auf unterschiedliche Schwefelwasserstoff-Donoren, Dosierungen, Applikationszeitpunkte und verschiedener Tiermodelle zurückzuführen sind. Dies führt zu einer erschwerten Vergleichbarkeit der Studien [9; 54]. Zumeist erfolgte die Applikation noch vor, oder direkt mit dem Trauma. Institutseigene Ergebnisse der Arbeitsgruppe Datzmann et al. erbrachten Ergebnisse, dass die systemische Gabe von $Na_2S_2O_3$ im Großtiermodell kurz nach dem Trauma in kardiovaskulär erkrankten Schweinen einen lungenprotektiven Effekt erbrachte [9].

1.2.2 Natriumthiosulfat führt zur Freisetzung von Schwefelwasserstoff

Natriumthiosulfat ($Na_2S_2O_3$) ist das Oxidationsprodukt von Schwefelwasserstoff [58]. $Na_2S_2O_3$ wird in der Wissenschaft als einer von vielen Stoffen genutzt, um einen Anstieg von H_2S herbeizuführen, denn H_2S selbst ist nicht gut verträglich [15; 28]. $Na_2S_2O_3$ gilt im Gegensatz seit Jahrzehnten in der Humanmedizin als ein sicheres und gut verträgliches Medikament mit wenig Nebenwirkungen und vielfältigen Anwendungsgebieten [29; 30].

Im Kontrast zu anderen H_2S generierenden Stoffen wie Natrium-Hydrogensulfid oder Natriumsulfid, agiert $Na_2S_2O_3$ nicht als ein direkter H_2S-Donor. $Na_2S_2O_3$ initiiert vielmehr die endogene Freisetzung von H_2S [51]. H_2S-Salze wie Natrium-Hydrogensulfid oder Natriumsulfid führen als schnell freisetzende Salze zu Spitzenkonzentrationen von H_2S,

welche jedoch in ihrer Konzentration schnell wieder abflachen [54]. Dies birgt das Risiko von toxischen Nebeneffekten durch Spitzenkonzentrationen wie z.B. der Zunahme einer Hyperinflammation [55].

Aktuelle Einsatzgebiete für $Na_2S_2O_3$ sind beispielsweise seltene Erkrankungsbilder wie die Calciphylaxie, denn $Na_2S_2O_3$ zeigte eine antikalzifizierende Wirkung mit Vasodilatation und antioxidativen Eigenschaften [44]. Auch im Rahmen verschiedener Vergiftungsszenarien ergaben sich positive Effekte durch die Gabe von $Na_2S_2O_3$. Bebarta et al. zeigten, dass sich $Na_2S_2O_3$ in einem Massenanfall von Verletzen im Rahmen einer Cyanid-Vergiftung als intramuskuläres Antidot eignete [2]. Im Rahmen einer Cisplatin-Therapie konnte durch die Gabe von $Na_2S_2O_3$ ein otoprotektiver Effekt nachgewiesen werden, wodurch der Cisplatin-induzierte Hörverlust bei Kindern minimiert werden konnte [4].

Aufgrund der guten Verträglichkeit, der positiven Forschungsergebnisse sowie der etablierten Nutzung von $Na_2S_2O_3$ in anderen Krankheitsbildern kam in dieser Studie $Na_2S_2O_3$ zum Einsatz. Handhabung, Konzentration und Applikationsform von $Na_2S_2O_3$ war im durchführenden Institut zudem durch die Vorexperimente von Datzmann et al. bereits etabliert [9].

1.3 Fragestellung

Diese Studie stützt sich auf die Erkenntnisse, welche die Forschungsgruppe Datzmann et al. erlangt hatten. Sie nutzten Schweine mit einer vorbestehenden koronaren Herzerkrankung [9]. Merz et al. zeigten eine signifikante Reduktion der CSE in kardiovaskulär erkrankten Schweinen nach überlebtem septischen Schock [31]. Aufgrund dessen entstand die Hypothese, dass solche vorerkrankten Tiere besonders von der Supplementierung von exogenem H_2S profitieren könnten. Datzmann et al. zeigten, dass $Na_2S_2O_3$ die durch den hämorrhagischen Schock induzierte Beeinträchtigung der Lungenmechanik und des Gasaustausches signifikant abmilderte [9]. Ein Effekt auf die Hämodynamik, Organdysfunktion, Inflammation oder den oxidativen und nitrosativen Stress konnten sie nicht feststellen [9]. Wie bereits im durch Messerer et al. beschrieben, nutzt diese Studie den bereits etablierten Versuchsaufbau von Datzmann et al. unter Nutzung kardiovaskulär gesunder Schweine [32]. Damit bietet sie eine verbesserte Übertragungsmöglichkeit auf einen kardiovaskulär gesunden Menschen. In dieser Studie

wurden die Parameter der Lungenfunktion, der Hämodynamik, des Metabolismus, der einzelnen Organsysteme und das Gesamtüberleben erhoben [32].

Für diese Arbeit ergeben sich folgende Fragestellungen:

- Kann die systemische Therapie mit Natriumthiosulfat in der Akutphase nach dem hämorrhagischen Schock auch in kardiovaskulär gesunden Tieren das Überleben verlängern?
- Zeigt sich die Hämodynamik und der Metabolismus positiv beeinflusst?
- Wirkt die systemische Therapie mit Natriumthiosulfat auch in kardiovaskulär gesunden Tieren organprotektiv auf Herz, Leber, Lunge und Niere?

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Versuchstiere

Für die Experimente wurden n = 18 adulte Tiere der Rasse „Bretoncelles-Meishan-Willebrand“ (BMW-Schweine) mit gesunder Herz-Kreislauffunktion verwendet. Ausgewertet werden konnten jedoch nur n = 17 Tiere, da es zu einem Todesfall vor Induktion des hämorrhagischen Schocks gekommen war [32]. Bei diesen genetisch mutierten Schweinen liegt eine von-Willebrand-Koagulopathie vor [38]. Das Gerinnungssystem des nicht-mutierten Schweins ist im Vergleich zum menschlichen Gerinnungssystem hyperkoagulabel [52]. Die BMW-Rasse ist dadurch gekennzeichnet, dass eine reduzierte Aktivität des von-Willebrand-Faktors vorliegt. Somit ähnelt das Gerinnungssystem der BMW-Schweine dem des Menschen und dieses Model bietet eine verbesserte Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den menschlichen Organismus [23; 39]. Die Tiere stammten aus dem Hôpital Lariboisière, Paris, Frankreich. Unter den Tieren waren zehn weibliche und sieben männliche kastrierte Schweine. Die Zuteilung zu den Versuchsgruppen erfolgte randomisiert [32]:

Interventionsgruppe (erhielten Natriumthiosulfat)	n = 9 Tiere (5 weibliche und 4 männliche)
Kontrollgruppe (erhielten Natrium-Chlorid (NaCl))	n = 8 Tiere (5 weibliche und 3 männliche)

Die Genehmigung des Versuchsvorhabens wurde durch den Tierschutzbeauftragten bzw. durch die Tierschutzbeauftragte der Universität Ulm und durch die Tierschutzkomission des Regierungspräsidiums Tübingen (Tierversuch-Nummer 1341) mit Schreiben vom 02.05.2017 erteilt [32].

2.2 Materialliste

Gerätschaften:

Beatmungsgerät	Siemens Servo-i Ventilator 900	Siemens, München, Deutschland
Blutgasanalyse-Gerät	ABL800 Flex, BGA-Gerät	Radiometer GmbH, Krefeld, Deutschland
Infusomat	Infusomat® fm	Braun AG, Melsungen, Deutschland
Indirekte Kalorimetrie	Quark RMR	Cosmed Pulmonary Function Equipment Srl, Rom, Italien
Patientenmonitoring	Datex-Ohmeda S/5™ Intensiv Monitor	Planarsystems Inc., Oregon, USA
Pulskontur-Herzzeitvolumen-Messung	PiCCO® Plus	Pulsion Medical Systems, München, Deutschland
Perfusoren	Perfusor® secura P	Braun AG, Melsungen, Deutschland
	Perfusor® compact	Braun AG, Melsungen, Deutschland
Pulsoxymetrie	Radical-7® Pulse CO-Oximeter®	Masimo Europe Ltd., Puchheim, Deutschland
Warmluftgerät	WarmTouch Patient Warming System	Medtronic, Dubin, Irland

Instrumentalisierungs- und Interventionszubehör:

Abdecktuch	Foliodrape® Abdecktuch, 175 x 150 cm	Paul Hartmann AG, Heidenheim, Deutschland
Adapter	Combifix® Adapter	Braun AG, Melsungen, Deutschland
Beatmungssystem	Beatmungssystem Erwachsener, 180 cm/ 19 mm	P.J. Dahlhausen & Co GmbH, Köln, Deutschland

Blutbeutel	MacoPharma Blutbeutel CPD, 500ml	MacoPharma, Mouvaux, Frankreich
Dreiwegehahn	Discofix®	Braun AG, Melsungen, Deutschland
Elektrokauter	ERBE ICC 350	Erbe Elektromedizin GmbH, Tübingen, Deutschland
Entnahme- und Zuspritzspike	Mini-Spike® und Transofix®	Braun AG, Melsungen, Deutschland
Fixierungsmaterial des Tubus	Idealbilde 4 cm + 5 m	Paul Hartmann AG, Heidenheim, Deutschland
Hämostyptikum	Tabotamp® 5 x 35 cm	Johnson & Johnson, New Jersey, USA
Hahnenbank	Discofix® C Hahnenbank 5-fach	Braun AG, Melsungen, Deutschland
Hundemaske	Hundemaske Plexiglas Gr. 2 groß, 130 mm	Covetrus DE GmbH, Hamburg, Deutschland
Infusionsleitung	Intrafix® SafeSet P, 230 cm	Braun AG, Melsungen, Deutschland
Infusomaten-Leitungen	Infusomat® Space Line P, 250/ 145 cm	Braun AG, Melsungen, Deutschland
Injektionskanüle gelb und grün	Sterican® Einmal-Injektions-Kanüle, Gr. 1 und 2	Braun AG, Melsungen, Deutschland
Katheterschleuse	Super Arrow-Flex® Percutaneous Sheath Introducer Set, 10F	Arrow International, Pennsylvania, USA
Kombi-Stopfen	Kombi-Stopfen rot und blau	Fresenius Kabi AG, Bad Homburg, Deutschland
Kompressen	NOBATOP® 12 Vliesstoffkompresse, 10 x 10 cm und 7,5 x 7,5 cm	NOBAMED Paul Danz AG, Wetter/ Ruhr, Deutschland

Magensonde	Duodenalsonde mit Röntgenkontraststreifen, CH16, 125 cm	P.J. Dahlhausen & Co GmbH, Köln, Deutschland
Nahtmaterial	Ethicon® VICRYL 3-0	Johnson & Johnson, New Jersey, USA
	Novosyn® 1 violet	Braun AG, Melsungen, Deutschland
	Terylene® 0	Serag-Wiessner GmbH & Co. KG, Naila, Deutschland
OP-Handschuhe	Peha-taft ® latex in unterschiedlichen Größen	Paul Hartmann AG, Heidenheim, Deutschland
Pulskontur-Herzzeitvolumen-Katheter-System	PiCCO Monitoring Kit und PiCCO® Catheter 4F	Pulsion Medical Systems SE, München, Deutschland
Perfusor-Leitung	Original Perfusor® Line 150 cm	Braun AG, Melsungen, Deutschland
Perfusor-Spritze	Original Perfusor® Syringe 50 ml	Braun AG, Melsungen, Deutschland
Rettungsdecke	Rettungsdecke, Gold/ Silber, 160 x 210 cm	ROESER Medical GmbH, Essen, Deutschland
Skalpelle	Chirurgisches Einmal-Skalpell, Größe 15 und 20	Braun AG, Melsungen, Deutschland
	AESCULAP® Sicherheits-Skalpellklingen	Braun AG, Melsungen, Deutschland
Spritzen	Injekt® Luer Solo, 2 bis 20 ml	Braun AG, Melsungen, Deutschland
Suprapubischer Katheter	Freka Cyst Standard, Punktionsbesteck, CH10, 6,5 cm	Fresenius Kabi AG, Bad Homburg, Deutschland
Transfusionsbesteck	Sangofix® B 150 cm	Braun AG, Melsungen, Deutschland

Tubus	Lo-Contour Oral-/Nasaler Trachealtubus mit Manschette, 7 und 7,5 mm	Covidien, Mansfield, MA, USA
Urinbecher	Sarstedt Urinbecher steril, 100 ml	SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland
Urinbeutel	Urimed B'Bags Urin- und Sekretbeutel, 1500 ml	Braun AG, Melsungen, Deutschland
Venenverweilkatheter	Vasofix® Safety 18G	Braun AG, Melsungen, Deutschland
Verbindungs- und Verlängerungsleitungen	Heidelberger Extension 190 cm	Fresenius Kabi AG, Bad Homburg, Deutschland
	lectro cath, 20 cm	Vygon GmbH & Co.KG, Aachen, Deutschland
Wundverband	Opsite® in verschiedenen Größen	Smith & Nephew, London, UK
Zellstoff	Pehazell® Zellstoff, 18,5 x 28,5 cm	Paul Hartmann AG, Heidenheim, Deutschland
Zentralvenöser Katheter	MAC™ Two-Lumen Central Venous Access Set und Access Device, 9F	Arrow International, Pennsylvania, USA

Medikamente und Infusionen:

Amiodaron	Amiodaron-ratiopharm 150 ml/ 3 ml Injektionslösung	Ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland
Aqua	Aqua ad iniectabilia	Braun AG, Melsungen, Deutschland
Atropin	Atropin, 0,5 mg/ml Injektionslösung	Braun AG, Melsungen, Deutschland
Azaperon	Stresnil®, 40 mg/ml Injektionslösung	Elanco GmbH, Cuxhaven, Deutschland

Buprenorphin	Buprenovet® Multidose 0,3 mg/ml, Injektionslösung	Bayer AG, Leverkusen, Deutschland
Buprenorphin	Temgesic® Ampullen, 0,3 mg Injektionslösung	ESSEX Pharma, München, Deutschland
Cefuroxim	cefUROXim-saar®, 1500 mg Pulver zur Herstellung einer Infektionslösung	MIP Pharma GmbH, Blieskastel, Deutschland
S-Ketamin	Ketanest® S 25 mg/ml Injektionslösung	Pfizer Pharma GmbH, Berlin, Deutschand
Esmolol	Brevibloc, 10 mg/ml Injektionslösung	Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland
Fentanyl	Fentanyl-hameln 50 µg/ 10 ml Injektionslösung	hameln pharma GmbH, Hameln, Deutschland
Fresubin	Fresubin Energy Drink	Fresenius Kabi, Bad Homburg, Germany
Gelafundin	Gelafundin ISO 40 mg/ml Infusionslösung, 500 ml	Braun AG, Melsungen, Deutschland
Glukose	Glukose 40 mg/ml, 500ml	Braun AG, Melsungen, Deutschland
Heparin	Heparin-Natrium Braun „Multi“ 10.000 I.E./ ml	Braun AG, Melsungen, Deutschland
Isotonische Kochsalzlösung	NaCl 0,9, 500 ml	Fresenius Kabi, Bad Homburg, Germany
Kaliumchlorid-Lösung	1 M-Kaliumchlorid-Lösung Fresenius, Konzentrat	Fresenius Kabi, Bad Homburg, Germany
Lösungsmittel	Ampuwa® 100 ml, Lösungsmittel	Fresenius Kabi, Bad Homburg, Germany
Metoprolol	Metoprololtartrat-Omniapharm®, 5 mg/ 5 ml Injektionslösung	Recordati Pharma GmbH, Ulm, Deutschland

Midazolam	Midazolam-ratiopharm® 15 mg/ 3 ml Injektionslösung	Ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland
Natriumthiosulfat	Natriumthiosulfat 25%, 100 ml Infusionslösung	Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, Bensheim, Deutschland
Noradrenalin	Arterenol®, 1 mg/ml Injektionslösung	CHEPLAPHARM Arzneimittel GmbH, Greifswald, Deutschland
Pancuronium	Pancuronium Inresa 4 mg/ 2 ml Injektionslösung	Inresa Arzneimittel GmbH, Freiburg, Deutschland
Pentobarbital-Natrium	Narcoren® 16 g/ 100 ml Infektionslösung	Boehringer Ingelheim, Ingelheim am Rhein, Deutschland
Propofol	Propofol-®Lipuro 20 mg/ml Emulsion zur Injektion	Braun AG, Melsungen, Deutschland
Sauerstoff	CONOXIA® GO2X	Linde plc, Dublin, Irland
Theodrenalin-Cafedrin	Akrinor®, 200 mg/ 2 ml + 10 mg/ 2ml Injektionslösung	Ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland
Vollelektrolytlösung	Jonosteril® 1/1 E, 1000 ml Infusionslösung	Fresenius Kabi, Bad Homburg, Germany

Organgewinnung und Laboraufbereitung:

ALT-Bestimmung	ALT-Reagenz, Cat. No: AL1205	Randox Laboratories Ltd., Ardmore, UK
AST-Bestimmung	AST-Reagenz, Cat. No: AS1204	Randox Laboratories Ltd., Ardmore, UK
Bilirubin-Bestimmung	Bilirubin (Total)-Reagenz, Cat. No: BR2361	Randox Laboratories Ltd., Ardmore, UK
Custodiol-Lösung	Custodiol® - Perfusionslösung zur Organkonservierung	Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, Bensheim, Deutschland

Eppendorf Pipetten		Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Eppendorf Pipettenspitzen		Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Eppendorf Tubes 2 ml	Eppendorf Safe-Lock Tubes 2ml	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Formaldehyd-Lösung	Formaldehyd-Lösung, 3,5 - 3,7% neutral gepuffert	Otto Fischar GmbH + Co., Saarbrücken, Deutschland
Gaschromatograph-Massenspektrometer	Agilent 6890/5973 GC/MS System	Agilent Technologies Deutschland GmbH, Waldbronn, Deutschland
Knochensäge	HEBU Oszillosäge	HEBUmedical GmbH, Tuttlingen, Deutschland
Kreatinin-Bestimmung	Creatinine assay, Cat. No: CR510	Randox Laboratories Ltd., Ardmore, UK
Monovetten	EDTA	Sarstedt, Nürmbrecht, Deutschland
	Lithium-Heparin, 9ml	Sarstedt, Nürmbrecht, Deutschland
Multi-Adapter	Multi-Adapter für S-Monovette®	SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland
Natriumsulfid	Natriumsulfid (Na_2S), Nr. 65122	Alfa Aesar, Massachusetts, USA
Pentafluorbenzylbromid	2,3,4,5,6-Pentafluor-benzylbromid, Nr. 101052-5G	Sigma-Aldrich Produktions-GmbH, Steinheim am Albuch, Deutschland
Photometer	Ultrospec 2100 UV-Visible Spectrophotometer	Amersham Biosciences, Amersham, UK

Tetradecyldimethyl-benzylammoniumchlorid	Benzyl-dimethyl-tetradecylammoniumchlorid, Nr. 13401-10G	Sigma-Aldrich Produktions-GmbH, Steinheim am Albuch, Deutschland
Zentrifuge	Rotina 38R	Hettich Lab Technology Tuttlingen, Deutschland

Datenauswertung:

Microsoft Office Version 16.0	Microsoft, Redmond, Washington, USA
GraphPad Prism 9®	GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA
Microsoft Windows 10	Microsoft, Redmond, Washington, USA
Microsoft Paint	Microsoft, Redmond, Washington, USA
Visme	Visme, Rockville, Maryland, USA

2.3 Methoden

2.3.1 Versuchsablauf

2.3.1.1 Versuchsvorbereitung

Die Schweine wurden auf den Oberberghof der Universität Ulm ein bis zwei Wochen zur Akklimatisierung artgerecht gehalten. Die Betreuung der Tiere erfolgte durch einen Tierpfleger/in und einen Tierarzt/-ärztin. Die Vitalparameter wurden mindestens einmal am Tag erhoben. Zwei Tage vor Versuchsbeginn erhielten die Tiere ausschließlich hochkalorische Flüssignährlösung (Fresubin). Dabei ergab sich je nach Bedarf eine Menge von sechs bis acht 500 ml Flaschen pro Tag. Durch die ausschließliche Zufuhr von flüssiger Nahrung minimierte sich die Gefahr einer Regurgitation von faserhaltigem Material, sodass die Gefahr einer Aspiration während der Einleitung der Narkose minimiert werden konnte. Die Schweine hatten jederzeit freien Zugang zu Wasser. Am Morgen des Versuchsbeginns erhielten sie zum einen Azaperon (5 mg/kg Körpergewicht (KG) und Midazolam (1-2 mg/kg KG) intramuskulär zur Sedierung, Anxiolyse und Bewusstseinsdämpfung [32]. Daraufhin wurden sie in einer Transportbox in die Räumlichkeiten des Instituts für Anästhesiologische Pathophysiologie und Verfahrensentwicklung der Universität Ulm gebracht, wo im Verlauf die weitere Anästhesie und chirurgische Instrumentierung stattfanden. Die Zuteilung in die Versuchsgruppen erfolgte randomisiert und verblindet (Interventionsgruppe: Natriumthiosulfat, n = 9; Kontrollgruppe: Trägerlösung Natrium-Chlorid (NaCl) 0,9 %, n = 8). Es ergab sich eine Ungleichheit der Gruppen, da ein Tier vor Experimentbeginn verstorben war [32].

2.3.1.2 Anästhesie, Instrumentierung und Ruhephase

Die Anästhesie und Instrumentierung fand für beide Gruppen in gleichem Maße statt, wie bereits durch Messerer et al. beschrieben [32]. Nach Ankunft in den Räumlichkeiten wurde noch in der Transportbox ein intravenöser Zugang in die Ohrvene gelegt, um jederzeit einen Zugang zur Applikation von Medikamenten zur Verfügung zu haben. Es folgte die Gabe von Propofol (1-2 mg/kg KG) und Ketamin (1-2 mg/kg KG) zur Anästhesie. Anschließend wurden die narkotisierten Tiere in Rückenlage auf einer weichen Unterlage auf einem Operationstisch gelagert. Vor der orotrachealen Intubation erfolgte eine Maskenpräoxygenierung. Nach Intubation wurde eine Magensonde zur Dekompression

des Magens eingelegt. Für die kontrollierte Beatmung während der folgenden Instrumentierung wurde eine Standard-Einstellung gewählt: die Atemfrequenz lag bei 10-12 Zügen/min, sodass sich der arterielle Kohlenstoffdioxidpartialdruck (p_aCO_2) im Zielbereich zwischen physiologischen 35-40 mmHg befand. Das Tidalvolumen betrug 8 ml/kg KG. Der positiv endexspiratorische Druck (PEEP) wurde auf 10 cmH_2O eingestellt und das Verhältnis zwischen Inspirations- und Exspirationszeit (I:E-Verhältnis) lag bei 1:1,5. Der Sauerstoffanteil (FiO_2) in der Inspirationsluft betrug 0,3. In der Einleitung und der folgenden Ruhephase wurden kontinuierlich die Vitalparameter durch ein Monitoring überwacht. Zum Monitoring gehörte standardmäßig eine Extremitätenableitung nach Einthoven in Form eines Elektrokardiogramms (EKG) und eine transkutanen Pulsoxymetrie. Die Temperaturmessungen erfolgten über das PiCCO®-Katheter-System (Pulse Contour Cardiac Output, z. Dt. Pulskontur-Herzzeitvolumen-Messung).

Weiterhin erhielten die Tiere folgende Medikamente: zur Muskelrelaxation wurden Pancuronium initial als Bolus (0,15 mg/kg KG) und im Verlauf durch den Perfusor (0,15 mg/kg KG/h) gegeben. Die Muskelrelaxation war notwendig, um den Muskeltonus der Thoraxwand gering zu halten, damit eine lungenprotektive Beatmung gewährleistet werden konnte. Weiterhin erfolgte die Gabe von Pentobarbital-Natrium (6-12 mg/kg KG/h) als Dauerinfusion für die Aufrechterhaltung der Narkose und die intermittierende individuelle Gabe von Buprenorphin um jederzeit eine Schmerzfreiheit der Tiere zu gewährleisten. Initial wurde ein Buprenorphin-Bolus (30 µg/kg KG) verabreicht sowie vor der operativen Instrumentalisierung ein erneuter Bolus (10-20 µg/kg KG). Zusätzlich erfolgten Bolusgaben nach festem Zeitschema alle acht Stunden. Individuell erhielten die Tiere je nach Bedarf oder vor schmerzhaften Stimuli zusätzliche Boli. Der Bedarf war unter anderem an einer Tachykardie und einer Hypertonie erkennbar. Additiv erhielten die Tiere eine isotone kristalloide Infusionslösung (Jonosteril® 1/1 E, 10 ml/kg KG/h) als Dauerinfusion über die gesamte Versuchsdauer, um den Flüssigkeitsbedarf zu decken. Zur Prävention von Infektionen wurde das Antibiotikum Cefuroxim (1500 mg) während der Instrumentierung intravenös als Single-Shot verabreicht.

Die operative Instrumentierung erfolgte unter sterilen Bedingungen nach Rasieren, Reinigen und Desinfizieren der entsprechenden Körperstellen und nahm im Gesamten etwa ein bis zwei Stunden in Anspruch. Um einen zentralen venösen Hauptzugang zur

Applikation von Infusionen und Medikamenten zu schaffen, wurde die rechte Jugularvene freigelegt und eine 9F-Katheterschleuse eingelegt. Über die Schleuse konnte ein mehrlumiger zentraler Venenkatheter (ZVK) platziert werden. Nach der Freilegung beider Femoralarterien erfolgte jeweils die Platzierung eines 4F PiCCO-Katheter®-System, um eine kontinuierliche Messung des kardialen Auswurfs über das HZV und den mittleren arteriellen Blutdruck (MAP) zu gewährleisten. Weiterhin wurde in die andere Femoralarterie eine 10F-Katheterschleuse eingelegt um das Blut für die Hämorrhagie und die Messpunkte (MP) entnehmen zu können. Die Installation eines transkutanen Blasenkatheters (Cystofix) erfolgte über eine mediane Minilaparotomie. Damit konnte kontinuierlich die Harnproduktion und Harnausscheidung nachvollzogen werden. Nach Abschluss der Instrumentierung und Anästhesie schloss sich eine Ruhe- und Erholungsphase von vier Stunden unter kontinuierlichem Monitoring, Beatmung und Infusion der entsprechenden Medikamente an. Die Ruhephase endete mit der Erhebung der Ausgangsdaten zum MP= 0h. Somit stellen die Daten zum Zeitpunkt 0h die physiologischen Vergleichswerte vor dem HS als Ereignis dar.

Legende

(1) Venöser Zugang (temporär)
2 Pulsoxymetrie
3 Orotrachealer Beatmungstubus
4 Orale Magensonde
5 Jugulärer zentraler Venenkatheter
6 Femorales PiCCO®-Kathetersystem
7 Femorale Katheterschleuse
8 Elektrokardiogramm-Ableitungen
9 Suprapubischer Harnblasenkatheter
10 Rektale Temperatursonde

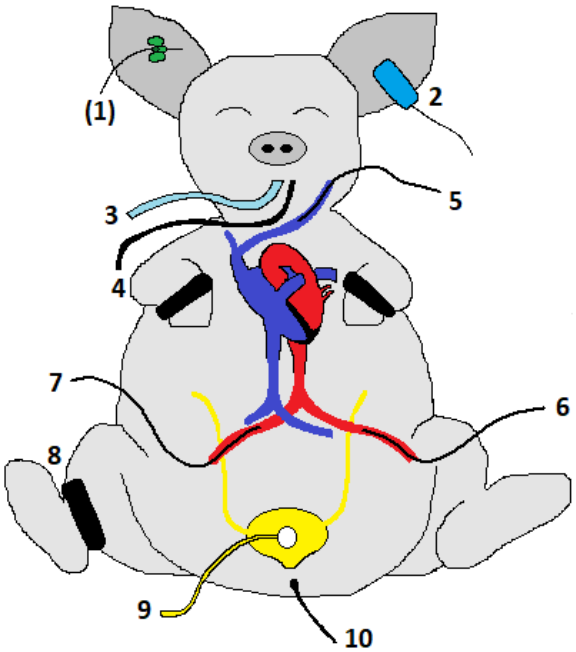

Abbildung 2: Schematische Darstellung der einliegenden Instrumentierungen. PiCCO® = Pulskontur-Herzzeitvolumen. Gezeichnet von A. Satari. Universität Ulm, 2022.

2.3.1.3 Schockphase

Die Schockphase ist schematisch in Abbildung 3 dargestellt und gleicht sich mit dem Versuchsablauf bisher durchgeführter Experimente der Forschungsgruppen um Datzmann et al., Knöller et al. sowie Messerer et al. [9; 23; 32].

Zum Abbilden einer möglichst physiologischen Ausgangssituation eines Menschen vor einem traumatischen Ereignis, wurden nach der Ruhephase die Beatmungsparameter angepasst: die Atemfrequenz wurde weitestgehend bei 10-12 Zügen/min beibehalten, sodass sich der arterielle p_aCO_2 weiterhin im Zielbereich von 35-40 mmHg befand. Das Tidalvolumen wurde ebenfalls mit 8 ml/kg KG beibehalten. Der PEEP wiederum wurde auf 0 cmH_2O reduziert, um den Einfluss der Beatmung auf der Körperkreislauf zu minimieren. Das I:E-Verhältnis betrug 1:2 und der FiO_2 wurde auf 0,21 reguliert.

Für die folgende Simulation eines hämorrhagischen Schocks wurden den Tieren 30 % ihres geschätzten Blutvolumens über einen Zugang in der Femoralarterie über einen Zeitraum von 30 Minuten entnommen. Das Blutvolumen errechnete sich dabei nach der folgenden Formel:

$$Blutvolumen\ (g) = KG\ (kg) * 0{,}08 * 0{,}3 * 1{,}1 * 1000$$

KG = Körpergewicht in Kilogramm

Faktor 0,08 = 8 % des Körpergewichts der Tiere

Faktor 0,3 = 30 % des Blutvolumens der Tiere

Faktor 1,1 = die angenommene Dichte des Blutes gegenüber Wasser

Das entnommene Blut wurde in Blutbeuteln gekühlt und gelagert. Hierbei handelte es sich um Blutbeutel mit dem Zusatz Acid-Citrate-Dextrose (ACD). ACD ist eine Stabilisator-Lösung bestehend aus Citronensäure, Natriumcitrat und D-Glucose, um eine Koagulation des Blutes zu verhindern. Durch die physiologische Hyperkoagulabilität des Schweineblutes war es notwendig die Menge des ACD-Zusatzes pro Beutel zu verdoppeln, um der Koagulation entgegenzuwirken. Anschließend wurde der MAP der Tiere auf 40 ± 5 mmHg titriert. Bei Bedarf wurden 50 ml Blut retransfundiert oder weiteres Blut

entnommen. Die gesamte Phase des hämorrhagischen Schocks erstreckte sich über drei Stunden. Zum Ende des HS erfolgte der MP = 3h, um die direkte körperliche Reaktion auf den HS abzubilden.

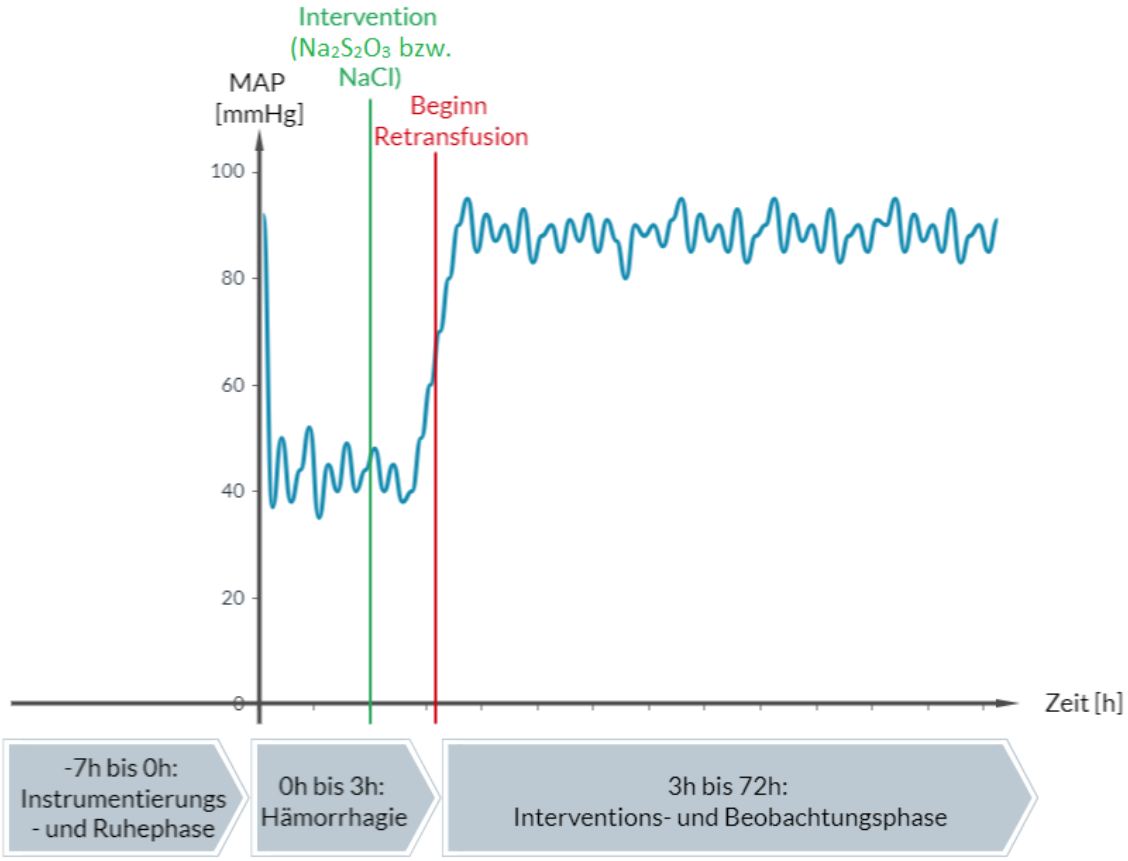

Abbildung. 3: Schematischer Versuchsablauf. Zeitlicher Ablauf der Experimente: hämorrhagischer Schock mit anschließender intensivmedizinischer Überwachung. In Grün der Zeitpunkt der Interventionsgabe ($Na_2S_2O_3$ = Natriumthiosulfat, NaCl = Natriumchloridlösung), in Rot der Zeitpunkt des Retransfusionsbeginns. Blaue Kurve als geschätzter Verlauf des mittleren arteriellen Drucks (MAP). Gezeichnet von A. Satari in Anlehnung an institutseigene Versuchspläne [9; 23; 32]. Universität Ulm, 2023.

2.3.1.4 Interventions- und Intensivüberwachungsphase

Während der Schockphase erhielten die Tiere lediglich 100 ml/h kristalloide Infusionslösung (Jonosteril 1/1 E). Zwei Stunden nach Beginn der Schockphase erfolgte die randomisiert und für den Untersucher verblindet Applikation der Interventionslösung (in der Natriumthiosulfat-Gruppe) bzw. der Trägerlösung (in der Kontrollgruppe) [32]. $Na_2S_2O_3$ wurde als eine initiale Infusion von 0,025 g/kg KG/h über zwei Stunden gegeben und folgend als Dauerinfusion über weitere 23 Stunden (0,1 g/kg KG/h). Die Tiere der Kontrollgruppe erhielten die Trägerlösung NaCl 0,9% ebenfalls als eine initiale Infusion

von 0,025 g/kg KG/h über zwei Stunden und folgend als Dauerinfusion über weitere 23 Stunden (0,1 g/kg KG/h). Die Dosisfindung erfolgte im Voraus über eigene Studien der Abteilung Anästhesiologische Pathophysiologie und Verfahrensentwicklung der Universität Ulm [9]. Nach drei Stunden folgte die Retransfusion des entnommenen Blutvolumens. Das Blut wurde über einen Zeitraum von einer Stunde retransfundiert. Zusätzlich erhielten die Tiere von dem Zeitpunkt an bis zum Ende des Versuchs eine isotone kristalloide Infusionslösung (Jonosteril 1/1 E, 20 ml/kg KG/h). Stieg der zentralvenöse Druck (ZVD) unter dieser Maßnahme über 18 mmHg, wurde die Infusionsrate auf 10 ml/kg KG/h reduziert. Stieg auch darunter der ZVD über 18 mmHg, wurde die Infusionsrate erneut halbiert auf 5 ml/kg KG/h. Konnte der MAP durch ein adäquates Flüssigkeitsmanagement nicht in einem physiologischen Zielwertbereich gehalten werden, wurde mit Hilfe intravenöser Gabe von Vasopressoren unterstützt. Dazu erhielten die Tiere Noradrenalin in einer bedarfsabhängigen Infusionsrate. Im Anschluss an die Retransfusion erfolgte die intensivmedizinische Überwachung über insgesamt 72 Stunden. Es fanden immer zwei Versuche (Interventions- und Kontrollgruppe) parallel mit einem Zeitversatz von 2h statt. Damit konnten saisonale Unterschiede zwischen den Gruppen ausgeschlossen werden.

Bezüglich der Beatmung erfolgten im Verlaufe kontinuierlich zielwertorientierte Anpassungen, sodass möglichst jederzeit eine lungenprotektive Beatmung sichergestellt werden konnte. Der Bedarf der Tiere konnte durch intermittierende Blutgasanalysen (BGA) nachvollzogen und immer neu evaluiert werden. Der p_aCO_2 sollte sich dabei im Zielbereich zwischen 35 und 40 mmHg befinden. Zur stetigen Beurteilung der Lungenfunktion wurde der Oxygenierungsindex nach Horowitz benutzt. Der Horowitz-Quotient dividiert den arteriellen Sauerstoff-Partialdruck (p_aO_2) durch die inspiratorische O_2-Fraktion (F_iO_2). Physiologische Werte liegen beim Lungengesunden bei Raumluft bei ca. 500 mmHg. Befand sich der Quotient zu einer Zeit unter 300 mmHg, wurde die Beatmungseinstellung auf einen PEEP von 12 cmH_2O und ein I:E-Verhältnis von 1:1 angepasst, lag der Oxygenierungsindex unter 200 mmHg, wurde der PEEP auf 15 cmH_2O erhöht [32].

Die Überwachung der Vitalparameter erfolgte weiterhin kontinuierlich über das EKG und die Pulsoxymetrie. Die Messung von HZV, MAP und Körpertemperatur erfolgte konstant

über das PiCCO-Katheter®-System und die Messung des ZVD über den ZVK. Die Regulierung der Körpertemperatur wurde durch ein Temperaturmanagement unterstützt. Dafür wurde ein Wärmesystem aus Warmluftgerät und isolierenden Rettungsdecken genutzt, um eine Normothermie des Schweins bis zu 39 °C zu erhalten. Die Vitalparameter wurden stündlich erhoben und in Form eines Narkoseprotokolls dokumentiert.

2.3.1.5 Experimentbeendigung

Nach insgesamt 72 Stunden wurden die Experimente beendet. Die Anästhesie der Tiere wurde durch eine zusätzliche Gabe von Pentobarbital-Natrium (der Überstand der Perfusorspritze gegeben als Bolus) und durch die Propofol-Gabe von 20 ml (20 mg/ml) vertieft. Die Schmerzfreiheit wurde durch die Gabe eines Buprenorphin-Bolus (30 µg/kg KG) intensiviert. Die Injektion von Kaliumchlorid-Lösung (50 bis 100 ml einer 1-molaren Lösung, bis das EKG eine Nulllinie anzeigte) führte zu einem Herzstillstand [32].

Zu jeder Zeit galten Bedingungen, die zu einer frühzeitigen Beendigung der Experimente geführt hätten:

- Der Zustand einer refraktären Hypotension, definiert als ein MAP unter 65 mmHg, welcher sich unter der maximalen Infusionsrate an Noradrenalin unverändert zeigt. Die maximale Infusionsrate ist erreicht, wenn der Zustand einer anhaltenden Herzfrequenz über 160/min eintritt. Höhere Herzfrequenzen wurden vermieden, um eine Tachykardie-induzierten Schädigung des Myokards zu vermeiden.
- Hypoxie mit einem arteriellen Sauerstoffpartialdruck < 60 mmHg trotz Anpassung der Beatmungsparameter als Hinweis auf ein akutes Lungenversagen (ARDS).
- Ein akutes anurisches Nierenversagen mit konsekutiver Hyperkaliämie von über 6,0 mmol/l und kardialen Arrhythmien war ebenso ein Kriterium der Experimentsbeendigung.

2.3.2 Messungen

Die Vitalparameter wurden kontinuierlich erhoben und in einem stündlichen Abstand in Form eines Narkoseprotokolls dokumentiert und im Rahmen dieser Dissertation

ausgewertet. Zusätzlich erfolgten in beiden Gruppen feste Messpunkte mit der Erhebung umfassender Parameter durch detaillierte Blut- und Urinuntersuchungen. Diese fanden zu folgenden Zeitpunkten statt: 0h = Ausgangssituation; 3h = zum Ende des hämorrhagischen Schocks; 24h, 48h und 68h (siehe Abbildung 4) [32]. Insgesamt erstreckte sich das Experiment über 72 Stunden. Sämtliche Daten wurden in ein Versuchsprotokoll eingetragen. Unterstützend wurden arterielle Blutgasanalysen alle zwei bis vier Stunden durchgeführt und im achtstündlichen Abstand analysiert (siehe Abbildung 4) [32].

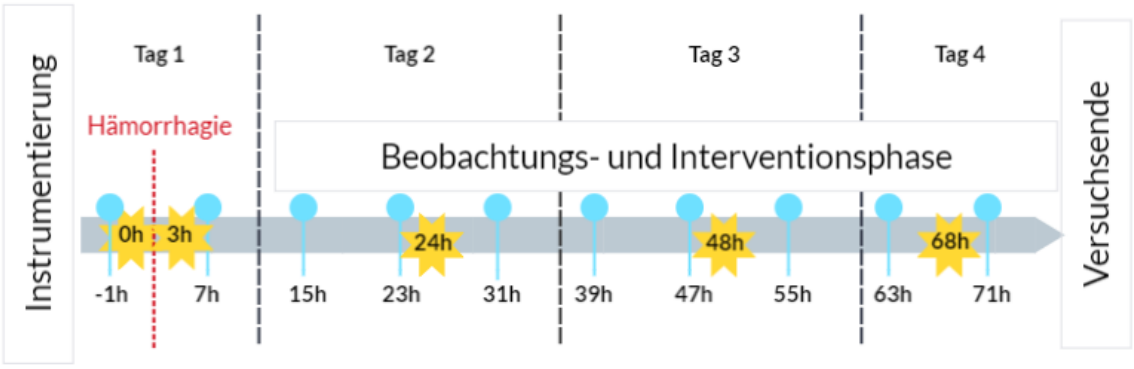

Abbildung 4: Zeitlicher Ablauf der Messungen. Der graue Balken markiert den zeitlichen Ablauf. Die gelben Sterne markieren die zentralen Messpunkte; die blauen Pinnnadeln markieren die achtstündlichen BGA-Messungen. h = Stunde. Gezeichnet von A. Satari in Anlehnung an institutseigene Versuchspläne [9; 23; 32]. Universität Ulm, 2023.

Die Messung der Körpertemperatur erfolgte durch eine Messelektrode des PiCCO-Katheter®-Systems.

2.3.2.1 Hämodynamik

Die hämodynamische Beobachtung der Versuchstiere erfolgte kontinuierlich durch die Ableitung der Parameter [32]:

- Herzfrequenz (HF)
- Mittlerer arterieller Druck (MAP)
- Schlagvolumen (SV)
- Herzzeitvolumen (HZV, berechnet)
- Schlagvolumenvariation (SVV)
- Zentralvenöser Druck

Mittels der Messelektrode des PiCCO-Katheter®-Systems konnten durch die Thermodilution und Pulskonturanalyse der MAP sowie das SV gemessen werden. Aus den Parametern ließ sich das HZV berechnen. Zudem konnte die SVV bestimmt werden. Die Ableitung der HF erfolgte durch das EKG. Der ZVD konnte durch die Installation eines jugulären ZVK gemessen werden.

2.3.2.2 Beatmungsparameter und Lungenfunktion

Die Beatmung fand ab dem Zeitpunkt der endotrachealen Intubation mit einem Servo-i Ventilator® der Firma Siemens statt. Dieser erlaubte die Einstellung der Standard-Beatmungsparameter und die Anpassung dieser je nach Zustand des Tieres, um eine möglichst lungenprotektive Beatmung zu gewährleisten. Folgende Beatmungsparameter ließen eine stetige Anpassung zu und wurden erhoben, um den Beatmungsstatus zu eruieren [32]:

- Tidalvolumen
- Atemfrequenz (AF)
- Atemminutenvolumen (AMV)
- Positiver endexspiratorischer Druck
- Atemspitzendruck (pPeak)
- Verhältnis der Inspiration zur Exspiration
- Inspiratorische Sauerstofffraktion

Zudem wurden folgende Parameter unter anderem durch die Analyse der Exspirationsluft und des Blutes gemessen bzw. berechnet :

- Sauerstoffsättigung
- Sauerstoffaufnahme (VO_{2max})
- Kohlendioxidabgabe (VCO_{2max})
- Horovitz-Quotient = p_aO_2/ F_iO_2

2.3.2.3 Blutgasanalysen und Metabolismus

Zu den Messpunkten 0h, 3h, 24h, 48h sowie 68h erfolgte die laborchemische Analyse zahlreicher Parameter wie im folgenden Abschnitt beschrieben [32]. Zudem wurde im Abstand von zwei bis vier Stunden eine arterielle BGA entnommen und in dieser Arbeit im

achtstündlichen Abstand analysiert. Die Untersuchungen erfolgten für beide Versuchsarme im gleichen Ausmaß.

In der BGA fanden sich die Parameter:

- pH-Wert
- Kohlenstoffdioxidpartialdruck
- Sauerstoffpartialdruck
- Base Excess (BE)
- Natrium, Kalium und Calcium
- Laktat
- Glukose

Zudem wurde der respiratorische Quotient erhoben. Der respiratorische Quotient (RQ) wird als Quotient von VCO_{2max} durch VO_{2max} berechnet. Der RQ lässt eine Aussage über die Kohlenstoffdioxidbildung und Sauerstoffaufnahme des Körpers und damit indirekt eine Aussage über die metabolische Belastung des Organismus zu.

Ausgewertet wurden die Blutgasanalysen mittels eines Blutgasmessgerätes des Models ABL System 800 Flex der Firma Radiometer GmbH. Die Diagnostik erfolgte in unmittelbarer Nähe zum Versuchstier und zeitlich direkt nach der Abnahme der Blutprobe ohne Verzögerung. Für die Messungen wurden arterielle Proben aus dem großen arteriellen Katheter entnommen. Der Sauerstoffpartialdruck wird durch das Blutgasmessgerät amperometrisch über eine Ladungsverschiebung ermittelt. Durch die Diffusion von Kohlenstoffdioxid aus dem Blut über eine Membran kommt es zur pH-Wert-Veränderung in der Sonde. Diese ausgelöste Spannungsänderung ist proportional zum Kohlendioxidpartialdruck und kann als p_aCO_2 gemessen werden. Der pH-Wert als Maß des Säure-Basen-Haushalts des Körpers wird über die H_3O^+-Konzentration als negativ didaktische Logarithmus bestimmt. Der BE beschreibt die Differenz der im Blut vorliegenden Säuren und Basen zum Normalwert und wird abhängig vom Standard-Bikarbonat (Bikarbonat-Konzentration, welche bei einem p_aCO_2 von 40 mmHg vorliegt) und vom aktuell vorliegenden pH-Wert berechnet. Die Elektrolyte Natrium, Kalium und Calcium werden im Blutgasmessgerät über eine hochselektive ionenspezifische Membran selektiert und in ihrer Konzentration gemessen. In der Bestimmung der Glukose- und

Laktatkonzentrationen bedient man sich ebenso der amperometrischen Messung. Über eine enzymatische Reaktion von Glukose und Laktat mit Wasser und Sauerstoff entsteht Wasserstoffperoxid (H_2O_2). Die angelegte Spannung führt dazu, dass H_2O_2 zu Sauerstoff und freien Elektronen oxidiert. Dies führt zu einem messbaren Strom, welcher proportional zu den Konzentrationen von Glukose und Laktat ist. Für die BGA wurde Vollblut verwendet.

2.3.2.4 Blutbild

Im Rahmen des Blutbilds erfolgt die Erhebung der Leukozyten-, Erythrozyten- und Thrombozyten-konzentrationen sowie der Hämoglobinkonzentration des Blutes [32]. Die kombinierte Messung erfolgte durch die zentrale Einrichtung der Klinischen Chemie der Universitätsklinik Ulm mithilfe eines Hämatologiegerätes. Dafür wurde den Tieren zu den Messpunkten 0h, 3h, 24h, 48h sowie 68h jeweils eine EDTA-Monovette entnommen.

Die Leukozyten- und Thrombozytenzahl wurde mit dem Verfahren der Durchflusszytometrie bestimmt. Dabei durchfloss die Blutprobe in einem Durchflusszytometer eine dünne Messkammer, Flusszelle genannt. Die Blutprobe wurde mit einem Laser angestrahlt. Je nach Größe und Volumen der einzelnen Zellen entsteht ein charakteristisches Streulicht, auch Light Scatter genannt, welches gemessen und den verschiedenen Zelltypen zugeordnet werden konnte. Die Erythrozytenzählung war möglich über eine Impedanzmessung. Dabei wurde die Blutprobe mit einer elektrisch leitenden Flüssigkeit zu einer Suspension vermischt und in eine Messkammer gegeben. Es wurde ein elektrisches Feld angelegt. Beim Durchtritt der Erythrozyten durch die Kapillare kam es zur Widerstandsänderung zwischen zwei Elektroden, welche gemessen werden konnte und proportional zur Zellgröße war. Die Hämoglobin-Konzentration wurde photometrisch gemessen. Dabei wurde die Transmission, also die Durchlässigkeit der Blutprobe mit monochromatischem Licht untersucht.

2.3.2.5 Nierenfunktion

Die Diurese der Tiere und die Funktionsfähigkeit der Nieren wurde unter anderem anhand der ausgeschiedenen Urinmenge untersucht, welche sich durch den operativ eingelegten suprapubischen Blasenkatheter genau quantifizieren lassen konnte. Gesammelt wurde der Urin über unterschiedlich lange Zeiträume: zum einen von Beginn der

Instrumentierung bis zum MP 0h (dies war bei Tieren mit gerader Versuchsnummer ein Zeitraum von 4 h und bei Tieren mit ungrader Versuchsnummer ein Zeitraum über 6 h) damit die Ausgangsfunktion der Niere evaluiert werden konnte. Die zweite Sammlung erfolgt vom MP 0h bis zum MP 3h (über einen Zeitraum von 27 h für beide Gruppen) und somit über die Hämorrhagie und die akute Phase nach dem HS. Die dritte und vierte Sammlung erfolgte jeweils vom MP 24h bis zum MP 48h (über 24 h) und vom MP 48h bis MP 68h (über 20 h), um die weitere Entwicklung der Diurese beobachten zu können.

Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) trifft eine Aussage darüber, wie viel Volumen pro Zeiteinheit von den Glomeruli der Niere filtriert wird. Die direkte Bestimmung der GFR war als Messmethode jedoch aufwendig und fehleranfällig. Daher wurde sich der Berechnung der Kreatinin-Clearance bedient, durch welche als indirektes Maß die Ausscheidungsfunktion der Niere abgeschätzt werden konnte [32].

Die Standard-Analysemethode zur Bestimmung der Kreatinin-Konzentrationen in Urin und Plasma ist die Jaffé-Reaktion. Hierbei handelte es sich um eine Indikator-Reaktion. In einem alkalischen Medium wurde den Proben Pikrinsäure zugegeben. Es kam durch eine Komplexbildung zu einem Farbumschlag, welcher photometrisch detektiert werden konnte und welcher proportional zum Kreatinin-Gehalt war [41]. Es wurde hierfür ein gewöhnliches Jaffé-Kit der Firma Randox Laboratories verwendet. Die Kreatinin-Clearance wurde dann anhand der gemessenen Parameter wie folgt berechnet:

$$Kreatinin\ Clearance\ (ml/min) = \frac{Kreatinin\ Urin\ (\mu mol) * Urinvolumen\ (ml)}{Kreatinin\ Plasma\ (\mu mol/l) * Zeit\ (min)}$$

Das Harnvolumen in ml/kg KG/h wurde aus der Ausscheidungsmenge berechnet. Damit bot sich die Möglichkeit die KDIGO-Klassifikation des akuten Nierenversagens anwenden zu können.

2.3.2.6 Leberfunktion

Um eine Aussage über die Leberfunktion treffen zu können, wurden zu den Messpunkten 0h, 3h, 24h, 48h und 68h folgende Parameter der klinischen Chemie erhoben: die

Aktivität der Leberenzyme Aspartat-Aminotransferase (AST) und Alanin-Aminotransferase (ALT), der De-Ritis-Quotienten und die Konzentration des Gesamtbilirubin [32].

Die Aktivität der Leberenzyme AST (Bezeichnung nach alter Nomenklatur: Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT)) und ALT (Bezeichnung nach alter Nomenklatur: Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT)) wurden über eine enzymatische Reaktion mithilfe fertiger Kits der Firma Randox bestimmt. Dafür erfolgte die Abnahme einer Lithium-Heparin-Monovette. Die Transaminasen katalysierten mit Hilfe des Coenzyms Pyridoxalphosphat eine Reaktion, bei der die Aminogruppe einer nicht benötigten Aminosäure auf eine α-Ketosäure übertragen wurde. In der Labordiagnostik der AST-Bestimmung wurde dabei aus α-Ketoglutarat und Aspartat über gekoppelte Zwischenschritte letztendlich Malat und die oxidierte Form des Redox-Paares NAD^+ (Nicotinamidadenindinukleotid). Dabei wurde der Redox-Partner NADH + H^+ reduziert, welches sich photometrisch messen ließ. Äquivalent wurde in der Labordiagnostik der ALT-Bestimmung aus α-Ketoglutarat und L-Alanin über gekoppelte Zwischenschritte Laktat und das oxidierte NAD^+ unter Reduktion des photometrisch bestimmbaren Redox-Partners NADH + H^+.

Die ALT ist leberspezifisch und befindet sich vorwiegend im Leberzellzytoplasma. Die AST hingegen kommt in vielen weiteren Organen vor. Sie befindet sich zudem innerhalb der Leber neben dem Zytoplasma auch im Mitochondrium. Durch die örtlichen Unterschiede lässt sich durch unterschiedlich hohe Konzentrationen der Enzyme im Blut eine mögliche Aussage über den Schädigungsgrad der Leber treffen. Unter Zuhilfenahme des De-Ritis-Quotienten kann abgeschätzt werden, ob ein leichter (De-Ritis-Quotient <1) oder ein schwerer (De Ritis-Quotient >1) Leberschaden vorliegt. Nur bei einer schweren Schädigung kommt es zur Zytolyse und somit zur Freisetzung von Mitochondrieninhalt inklusive der AST ins Blut.

$$De - Ritis - Quotient = \frac{AST}{ALT}$$

Das Gesamtbilirubin ist ein hepatisches Abbauprodukt des Hämoglobins und lässt Aussagen über die Leberexkretionsleistung und eine mögliche Schädigung dieser zu. Die Bestimmung des Gesamtbilirubin erfolgte spektrophotometrisch.

2.3.2.7 Konzentrations-Monitoring Sulfid

$Na_2S_2O_3$ führt bei intravenöser Gabe als Donor zu einer Freisetzung von Schwefelwasserstoff (H_2S). Sulfid ist dabei das Salz bzw. Ester des H_2S. Die Sulfid-Konzentration im Blut der Schweine wurde durch eine modifizierte Gaschromatographie gekoppelt mit einer Massenspektrometrie nach Kage (GC/MS) durchgeführt [28]. Die Gaschromatographie führt zur Auftrennung des zu untersuchenden Vollblutes und mit der Massenspektrometrie gelangt man zur Identifizierung und Quantifizierung des Sulfids mittels Analyse der generierten Teilchen.

Um einen Stoff mittels GC/MS separieren, identifizieren und quantifizieren zu können, muss das ursprüngliche Stoffgemisch unzersetzt verdampfbar sein. Daher musst im Vorfeld eine chemische Modifikation im Sinne einer Derivatisierung durchgeführt werden [56]. Für diesen Schritt wurde eine extrahierende Alkylierungsreaktion benutzt. Die Herstellung der Derivatisierungs-Flüssigkeit sowie die folgenden Schritte zur Herstellung der Aliquote sind in Abbildung 5 zu sehen. Die Aliquote konnten im Anschluss der modifizierten Gaschromatographie gekoppelt mit einer Massenspektrometrie zugeführt werden.

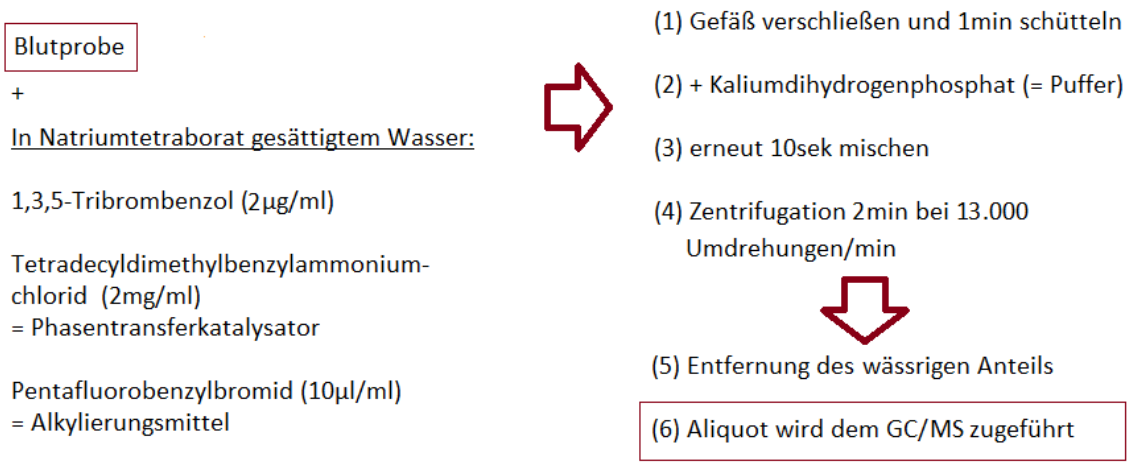

Abbildung 5: Ablauf der extrahierenden Alkylierungsreaktion. µg = Mikrogramm, ml = Milliliter, mg = Milligramm, min = Minute, sek = Sekunde, GC/MS = Modifizierte Gaschromatographie gekoppelt mit einer Massenspektrometrie nach Kage. Gezeichnet von A. Satari in Anlehnung an McCook et al. 2014 [28]. Universität Ulm, 2022.

Die Analyse erfolgte mit einem 6890/5973 GC/MS System der Firma Agilent mit einer MN 5MS-Kapillare. Als Trägergas wurde Helium benutzt. Das Temperaturprogramm basiert auf Daten aus institutseigenen Studien (z.B. angewandt bei McCook et al. 2014 [28]).

Bei der anschließenden Massenspektrometrie wurde für die Elektronen-Stoß-Ionisation eine Ionisations-Energie von 70 Elektronenvolt gewählt. Das Masse-zu-Ladungs-Verhältnis (m/z) lag bei 394,0 um die Ionen $^{32}S^{2-}$ sichtbar machen zu können.

Zusammenfassend wurden die Blutproben mit dem zu untersuchenden Sulfid zu Bis-(pentafluorbenzyl)-sulfid (BPFBS) ($C_6F_5CH_2SCH_2C_6F_5$) alkyliert und dies gegen den internen Standard Tribrombenzol quantifiziert [28].

2.3.3 Statistische Analyse

Die deskriptive Darstellung der Daten erfolgte nicht nur in Tabellenform, sondern auch in der Darstellung einer Überlebungskurve nach Kaplan-Meier und in Form von Box-Whisker-Plots. Die Grenzen der Box markieren das untere (1. Quartil, 25%) und das obere Quartil (3. Quartil, 75%). Die Box als Ganzes zeigte den Interquartilsabstand. Die Antennen (auch Whisker genannt) kennzeichneten die Spannweite der erhobenen Daten. Die horizontale Linie innerhalb der Box markiere den Median (2. Quartil, 50%). In Textform markiert der erste Wert den Median, die Werte innerhalb der Klammer stellen das erste und das dritte Quartil dar.

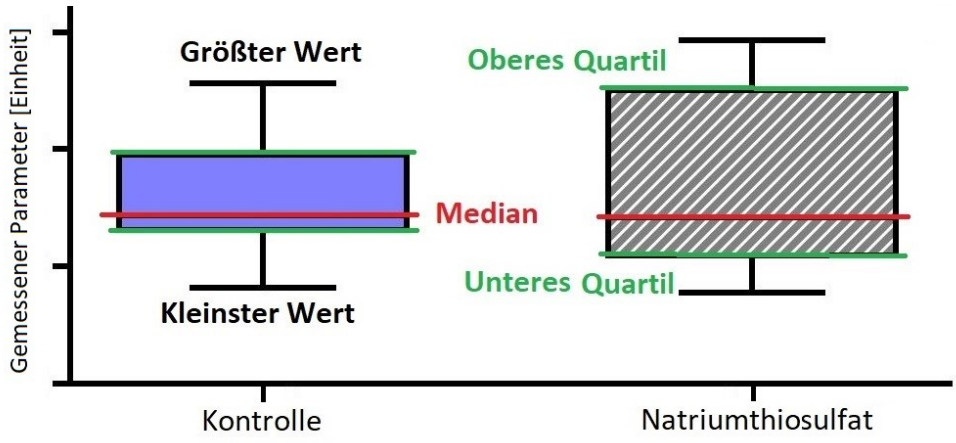

Abbildung 6: Aufbau eines Box-Whisker-Plots. In Rot der Median, in Grün das obere und untere Quartil, in Schwarz der größte und kleinste Wert. Gezeichnet von A. Satari. Universität Ulm, 2022.

Um eine Gaußsche Normalverteilung auszuschließen, wurde als erster Schritt der Kolmogorov-Smirnov-Test durchgeführt. Der Vergleich der Interventions- mit der Kontrollgruppe zu den Messpunkten 0h, 3h, 24h, 48h und 68h erfolgte im zweiten Schritt durch den Mann-Whitney U Test. Im dritten Schritt wurde innerhalb der Kontroll- bzw. Interventionsgruppe zu allen Messpunkten verglichen. Dabei wurde immer dasselbe Tier mit den erhobenen Daten der Ausgangsdatenlage vor der Hämorrhagie verglichen (mit dem MP -1h bzw. 0h). Dafür fand der Kruskal-Wallis-Test Anwendung sowie im Anschluss der Post-hoc Test nach Dunn-Bonferroni. Für die Überlebenswahrscheinlichkeit wurde der Log-Rang- (Mantel-Cox-) Test genutzt. Das Signifikanzniveau für alle Ergebnisse wurde als $p < 0,05$ gewählt.

Die Stichprobengröße basiert auf Ergebnissen vorheriger Studien der Abteilung Anästhesiologische Pathophysiologie und Verfahrensentwicklung der Universität Ulm [9; 23; 32]. Die statistische Power wurde anhand der Hauptkriterien Noradrenalin-Bedarf und Kreatinin-Clearance errechnet. Die Berechnung ergab eine Stichprobengröße von mindestens $n = 16$ (15 Tiere + eine Reserve).

Die Daten wurden gesammelt und bearbeitet mit Hilfe des Programms Microsoft Office Version 16.0. Die statistische Auswertung sowie die Erstellung der Grafiken erfolgte mit dem Statistikprogramm GraphPad Prism Version 9® sowie Visme und Microsoft Paint.

3 ERGEBNISSE

Für die Untersuchung eines möglichen organprotektiven Effekts einer frühen Gabe von $Na_2S_2O_3$ im HS wurden im Gesamten 17 Versuchstiere den Experimenten zugeführt [32]. Rekrutiert wurden 18, Versuchstiere, jedoch verstarb eins frühzeitig vor Durchführung des hämorrhagischen Schocks und wurde entsprechend als Drop-out gewertet. Es wurden beide Geschlechter verwendet (zehn weibliche und sieben männliche Tiere). Die Gruppen wurden randomisiert den zwei Versuchszweigen zugeteilt. Innerhalb der Kontrollgruppe (Natrium-Chlorid-Gabe) befanden sich n = 8 Tiere und innerhalb der Interventionsgruppe (Natriumthiosulfat-Gabe) befanden sich n = 9 Tiere. Aufgrund von Messproblematiken wurden nicht zu allen Zeitpunkten der Messungen die jeweils vollen 17 Werte erhoben. Zudem verstarben insgesamt drei Tiere vorzeitig, bzw. das Experiment musste aufgrund von Ausschlusskriterien abgebrochen werden. Daher konnten insbesondere zu den MP 68h und MP 71h nur n = 15 bzw. n = 14 Tiere ausgewertet werden.

Die Anzahl der Versuchstiere stimmt nicht mit der errechneten Stichprobengröße von n = 16 Tieren pro Versuchsgruppe überein. Die durchgeführten Interimsanalyse führte zu einem Verwerfen der Nullhypothese. Aufgrund dessen wurden die Versuche vor Erreichen der statistischen Power abgebrochen [32].

3.1 Allgemeine Daten

Die Schweine waren zwischen zehn bis 17 Monaten alt und das mediane Gewicht der Tiere betrug 62 (55,5; 66,5) kg [32]. Für die Simulation eines hämorrhagischen Schocks wurde den Tieren im Mittel 30 % ihres geschätzten Blutvolumens entnommen. In der Kontrollgruppe waren dies bedingt durch das Titrieren des mittleren arteriellen Blutdrucks 35 (33; 40) ml/kg KG, entsprechend 39 (38; 46) % des Gesamtblutvolumens. In der Natriumthiosulfat-Gruppe verloren die Tiere 28 (24; 39) ml/kg KG Blut, dies entspricht prozentual 32 (28; 44) % ihres Gesamtblutvolumens. Der Gruppenunterschied war jedoch statistisch nicht signifikant (siehe Abbildung 7) [32].

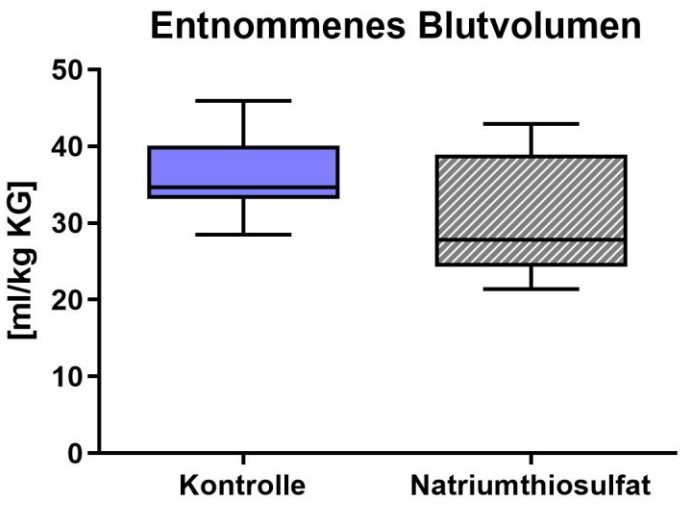

Abbildung 7: Grafische Darstellung des entnommenen Blutvolumens. Interventionsgruppe (Natriumthiosulfat) mit n = 9 Schweinen und Kontrollgruppe (NaCl) mit n = 8 Schweinen. **#p** < 0,05 Interventions- gegenüber Kontrollgruppe. ml = Milliliter, kg = Kilogramm, KG = Körpergewicht. Modifiziert nach Messerer et al. 2022 [32], CC BY 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

Bei der Körpertemperatur der Tiere gab es signifikante Schwankungen innerhalb beider Gruppen im Vergleich zu den Ausgangswerten (siehe Abbildung 8) unter iatrogener Erwärmung [32]. Die Messungen zum Zeitpunkt 31h und 39h zeigten einen signifikanten Unterschied im Vergleich beider Gruppen gegeneinander.

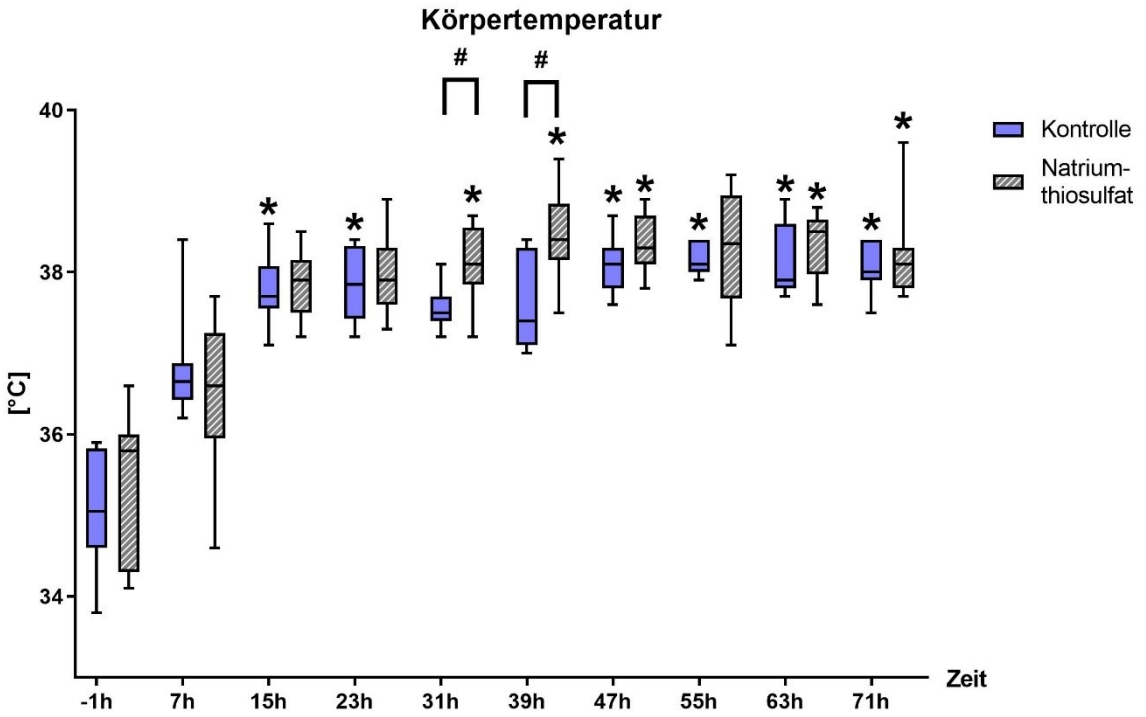

Abbildung 8: Grafische Darstellung der Körpertemperatur. Interventionsgruppe (Natriumthiosulfat) mit n = 9 Schweinen und Kontrollgruppe (NaCl) mit n = 8 Schweinen. **#p** < 0,05 Interventions- gegenüber Kontrollgruppe, ***p** < 0,05 im Vergleich zum Messpunkt -1h. °C = Grad Celsius, h = Stunde. Modifiziert nach Messerer et al. 2022 [32], CC BY 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

3.2 Sulfid-Konzentration

Nach Gabe des Interventionsmedikaments Natriumthiosulfat zeigte sich in der Interventionsgruppe eine deutlich erhöhte Konzentration an Sulfid verglichen mit der Interventionsgruppe (signifikanter Gruppenunterschied zum MP 24h).

Zum MP 48h hatten sich die Konzentrationen an Sulfid wieder weit aneinander angenähert, dass im Folgenden keine signifikanten Gruppenunterschiede mehr erkennbar waren. Im gruppeninternen Vergleich zeigten sich in der Natriumthiosulfat-Gruppe die signifikanten Höchstwerte zum MP 24h. Zum Ende des Experiments wurden die Ausgangswerte beinahe wieder erreicht (siehe Abbildung 9).

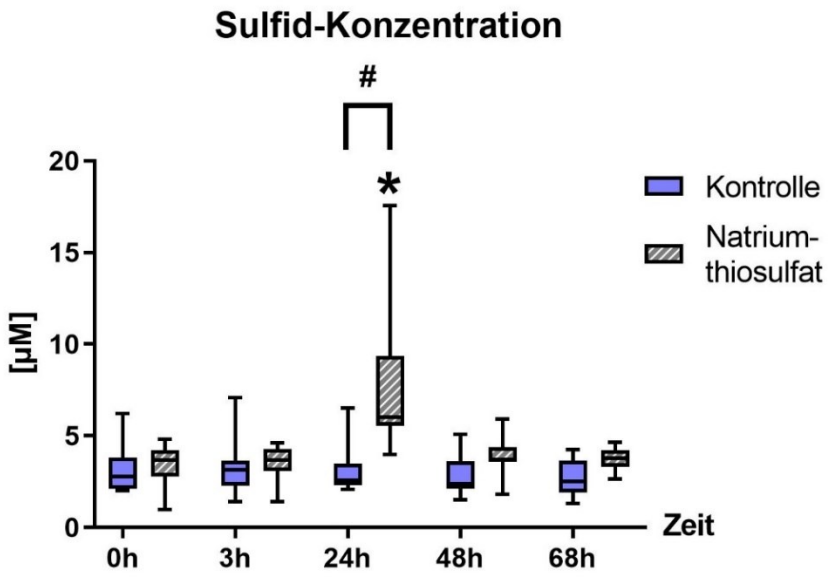

Abbildung 9: Grafische Darstellung der Sulfid-Konzentration. Interventionsgruppe (Natriumthiosulfat) mit n = 9 Schweinen und Kontrollgruppe (NaCl) mit n = 8 Schweinen. **#p** < 0,05 Interventions- gegenüber Kontrollgruppe, ***p** < 0,05 im Vergleich zum Messpunkt 0h. µM = Mikromol, h = Stunde. Universität Ulm, 2019/2020.

3.3 Hämodynamik und Noradrenalin-Bedarf

Während des gesamten Versuchs wurden die hämodynamischen Parameter Herzfrequenz, mittlerer arterieller Druck sowie der zentral venöse Druck kontinuierlich im achtstündlichen Abstand erhoben. Das Schlagvolumen sowie die Schlagvolumenvariation wurden zu den zentralen Messpunkten (0h, 3h, 24h, 48h sowie 68h) erhoben. Das HZV wurde aus der HF sowie dem SV berechnet. Das HZV fiel nach dem HS zum MP 3h ab (in die Kontrollgruppe signifikant, in der Interventionsgruppe nicht signifikant). Im Gruppenvergleich entstand eine signifikante Differenz zum MP 24h mit niedrigeren Werten in der Kontrollgruppe (siehe Abbildung 10) [32].

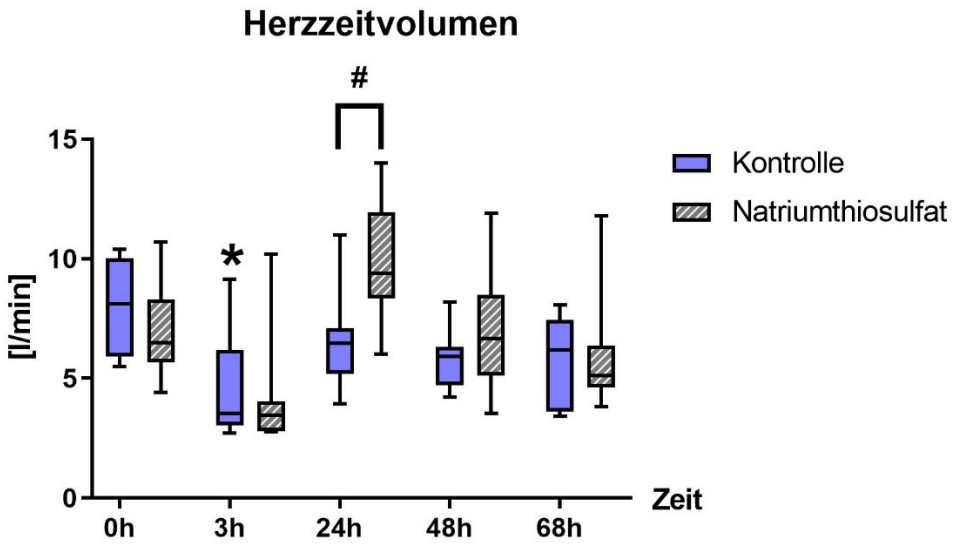

Abbildung 10: Grafische Darstellung des Herzzeitvolumens. Interventionsgruppe (Natriumthiosulfat) mit n = 9 Schweinen und Kontrollgruppe (NaCl) mit n = 8 Schweinen. **#p** < 0,05 Interventions- gegenüber Kontrollgruppe, ***p** < 0,05 im Vergleich zum Messpunkt 0h. l = Liter, min = Minuten, h = Stunde. Modifiziert nach Messerer et al. 2022 [32], CC BY 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

Ebenso sichtbar sind diese Ergebnisse anhand des Anstiegs der Herzfrequenz nach dem HS zum MP 7h (siehe Abbildung 11) [32] sowie durch den Anstieg des Schlagvolumens (HZV = HF x SV) (siehe Abbildung 12).

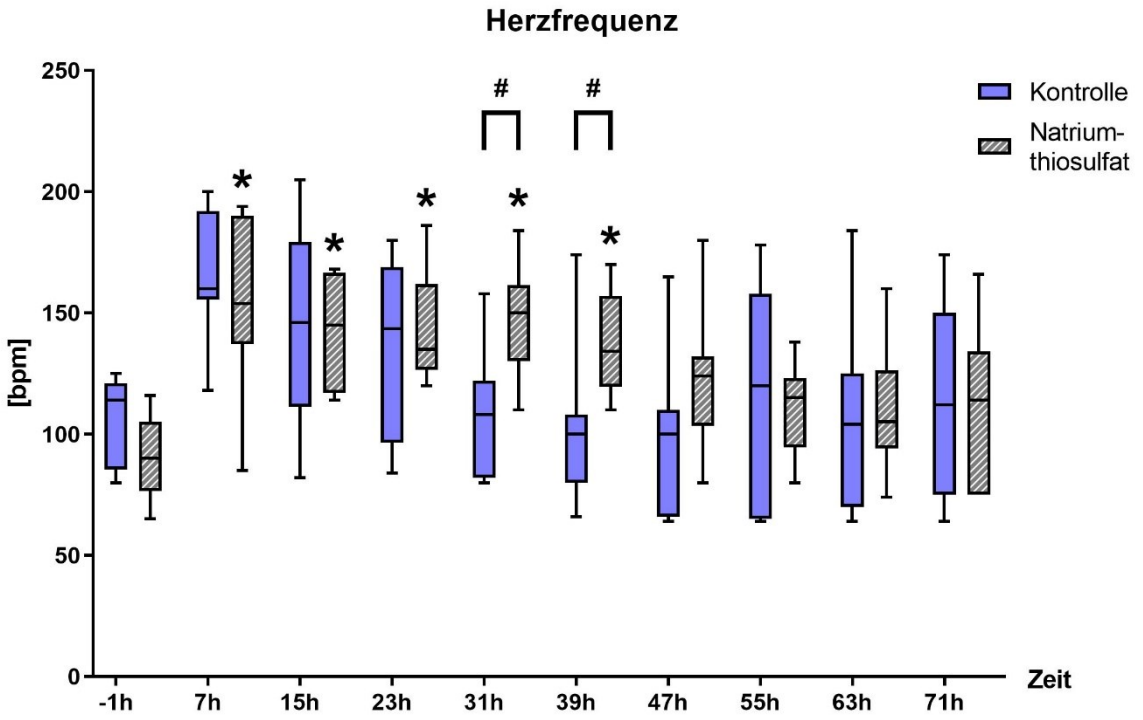

Abbildung 11: Grafische Darstellung der Herzfrequenz. Interventionsgruppe (Natriumthiosulfat) mit n = 9 Schweinen und Kontrollgruppe (NaCl) mit n = 8 Schweinen. **#p** < 0,05 Interventions- gegenüber Kontrollgruppe, ***p** < 0,05 im Vergleich zum Messpunkt -1h. bpm = beats per minute (z. Dt. Schläge die Minute), h = Stunde. Modifiziert nach Messerer et al. 2022 [32], CC BY 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

Die Schlagvolumenvariation zeigte einen reziproken Verlauf im Vergleich zum SV mit einem Anstieg der SVV im Rahmen des HS zum MP 3h. Es waren keine signifikanten Unterschiede im Gruppenvergleich sichtbar (siehe Abbildung 12) [32].

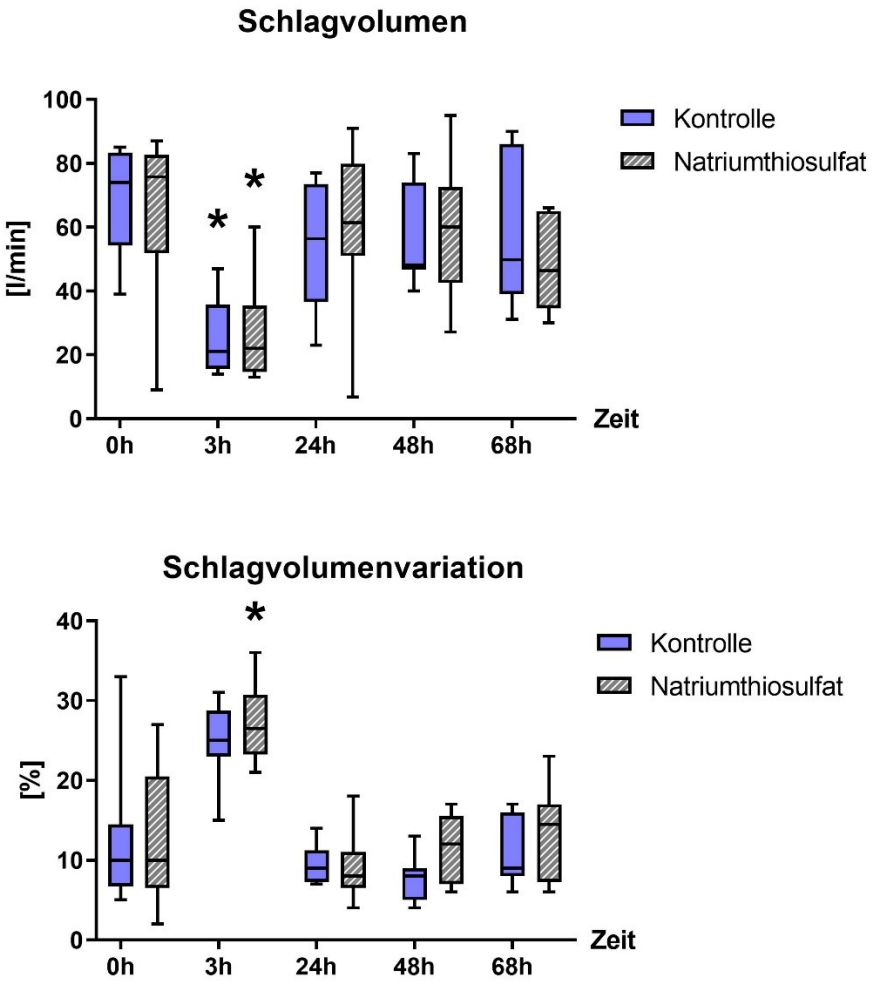

Abbildung 12: Grafische Darstellung des Schlagvolumens und der Schlagvolumenvariation. Interventionsgruppe (Natriumthiosulfat) mit n = 9 Schweinen und Kontrollgruppe (NaCl) mit n = 8 Schweinen. **#p** < 0,05 Interventions- gegenüber Kontrollgruppe, ***p** < 0,05 im Vergleich zum Messpunkt 0h. l = Liter, min = Minute, % = Prozent, h = Stunde. Modifiziert nach Messerer et al. 2022 [32], CC BY 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

Der mittlere arterielle Blutdruck zeigte sich im Verlauf stabil [32]. Signifikante Unterschiede sind alleinig zum MP 39h im Vergleich beider Gruppen zueinander sichtbar mit höheren Drücke in der Kontrollgruppe (siehe Abbildung 13).

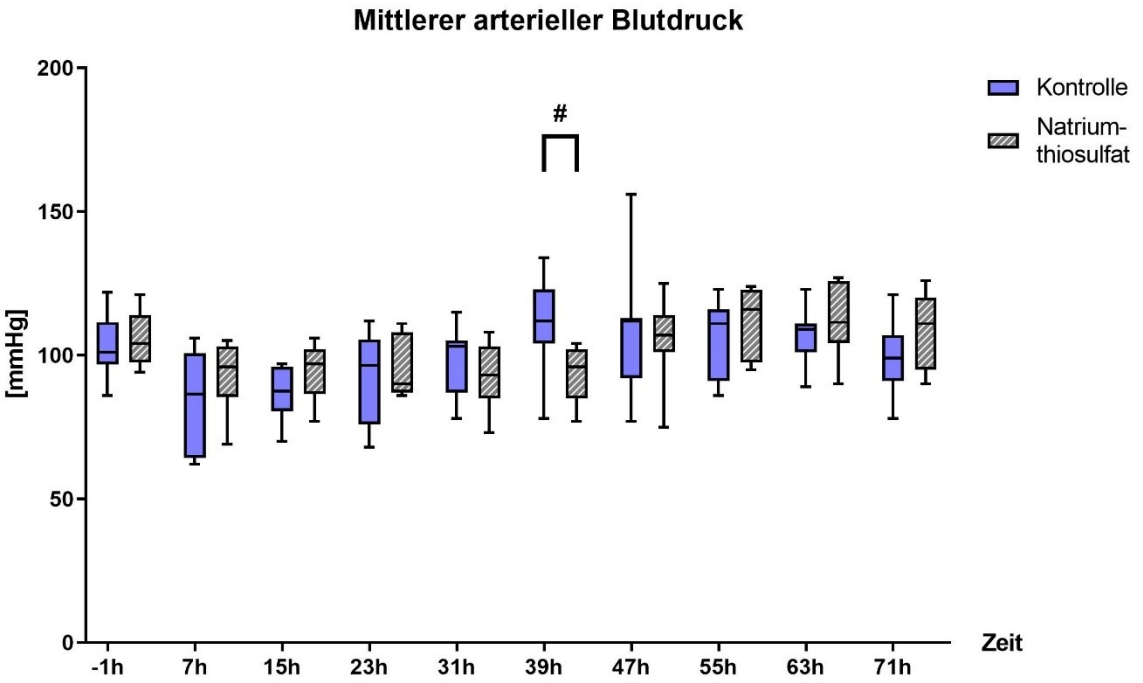

Abbildung 13: Grafische Darstellung des mittleren arteriellen Blutdrucks. Interventionsgruppe (Natriumthiosulfat) mit n = 9 Schweinen und Kontrollgruppe (NaCl) mit n = 8 Schweinen. **#p** < 0,05 Interventions- gegenüber Kontrollgruppe, ***p** < 0,05 im Vergleich zum Messpunkt -1h. mmHg = Millimeter-Quecksilbersäule, h = Stunde. Modifiziert nach Messerer et al. 2022 [32], CC BY 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

Der zentralvenöse Druck zeigte nur einen geringen Anstieg in der Phase nach Induktion des HS. Die Veränderungen waren in beiden Gruppen nicht signifikant (siehe Abbildung 14) [32].

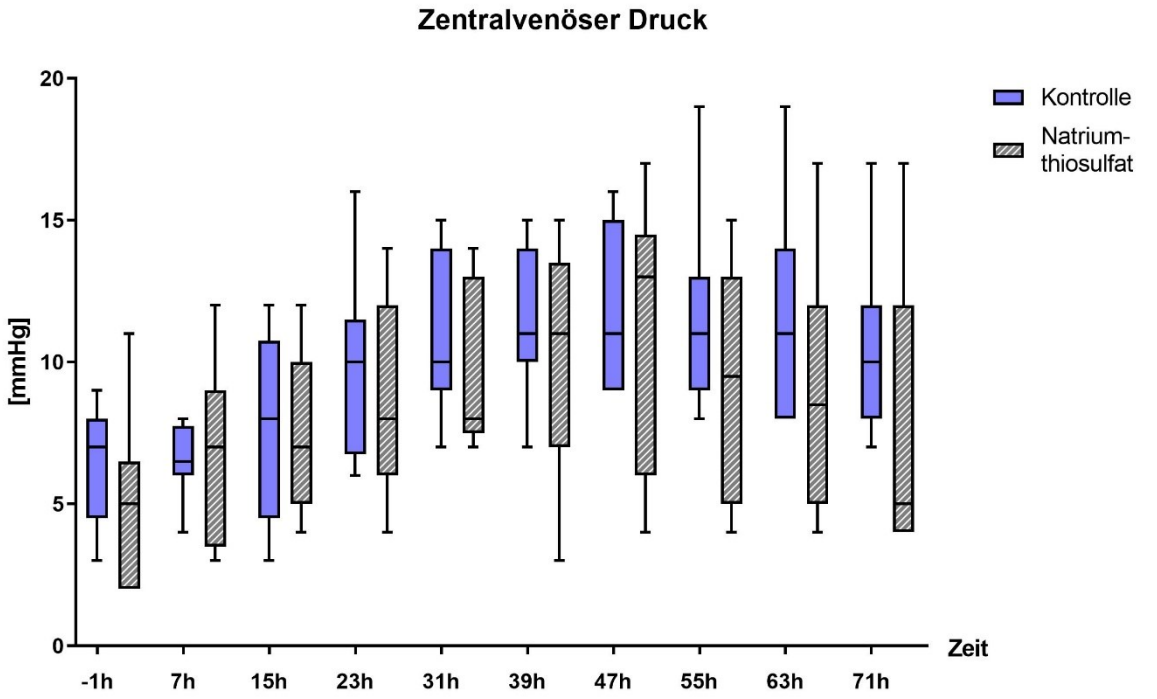

Abbildung 14: Grafische Darstellung des zentralvenösen Drucks. Interventionsgruppe (Natriumthiosulfat) mit n = 9 Schweinen und Kontrollgruppe (NaCl) mit n = 8 Schweinen. **#p** < 0,05 Interventions- gegenüber Kontrollgruppe, ***p** < 0,05 im Vergleich zum Messpunkt -1h. mmHg = Millimeter-Quecksilbersäule, h = Stunde. Modifiziert nach Messerer et al. 2022 [32], CC BY 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

Maßgeblich die vorherigen Parameter beeinflussend war die Noradrenalin-Gabe. Die Tiere der Kontrollgruppe brauchten 0,8 (0,1; 1,8) µg/kg KG/min Noradrenalin, um ihren mittleren arteriellen Blutdruck dauerhaft ausreichend in einem physiologischen Bereich zu halten. Die Tiere der Interventionsgruppe brauchten 0,9 (0,5; 1,1) µg/kg KG/min Noradrenalin. Es fand sich kein statistisch signifikanter Unterschied im Bedarf des Noradrenalins zwischen den Gruppen (siehe Abbildung 15) [32].

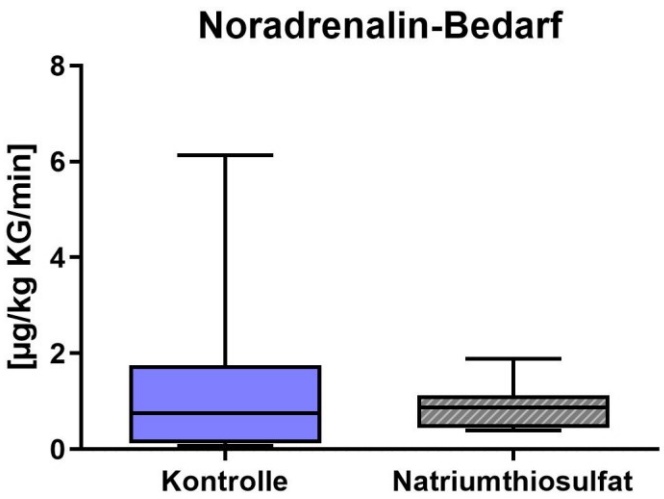

Abbildung 15: Grafische Darstellung des Noradrenalin-Bedarfs. Interventionsgruppe (Natriumthiosulfat) mit n = 9 Schweinen und Kontrollgruppe (NaCl) mit n = 8 Schweinen. **#p** < 0,05 Interventions- gegenüber Kontrollgruppe. µg = Mikrogramm, kg = Kilogramm, KG = Körpergewicht, min = Minuten. Modifiziert nach Messerer et al. 2022 [32], CC BY 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

3.4 Beatmung und Lungenfunktion

Zur Analyse der Lungenfunktion wurden die kontinuierlich erhobenen Daten (Atemminutenvolumen, Atemfrequenz, Atemspitzendruck) im achtstündlichen Abstand analysiert. Im Vergleich der Versuchsarme miteinander zeigten sich keine signifikanten Unterschiede [32]. Das AMV und die AF waren in der Kontrollgruppe zum MP 7h und 15h im Vergleich zum gruppeninternen Ausgangswert signifikant erhöht (siehe Abbildung 16).

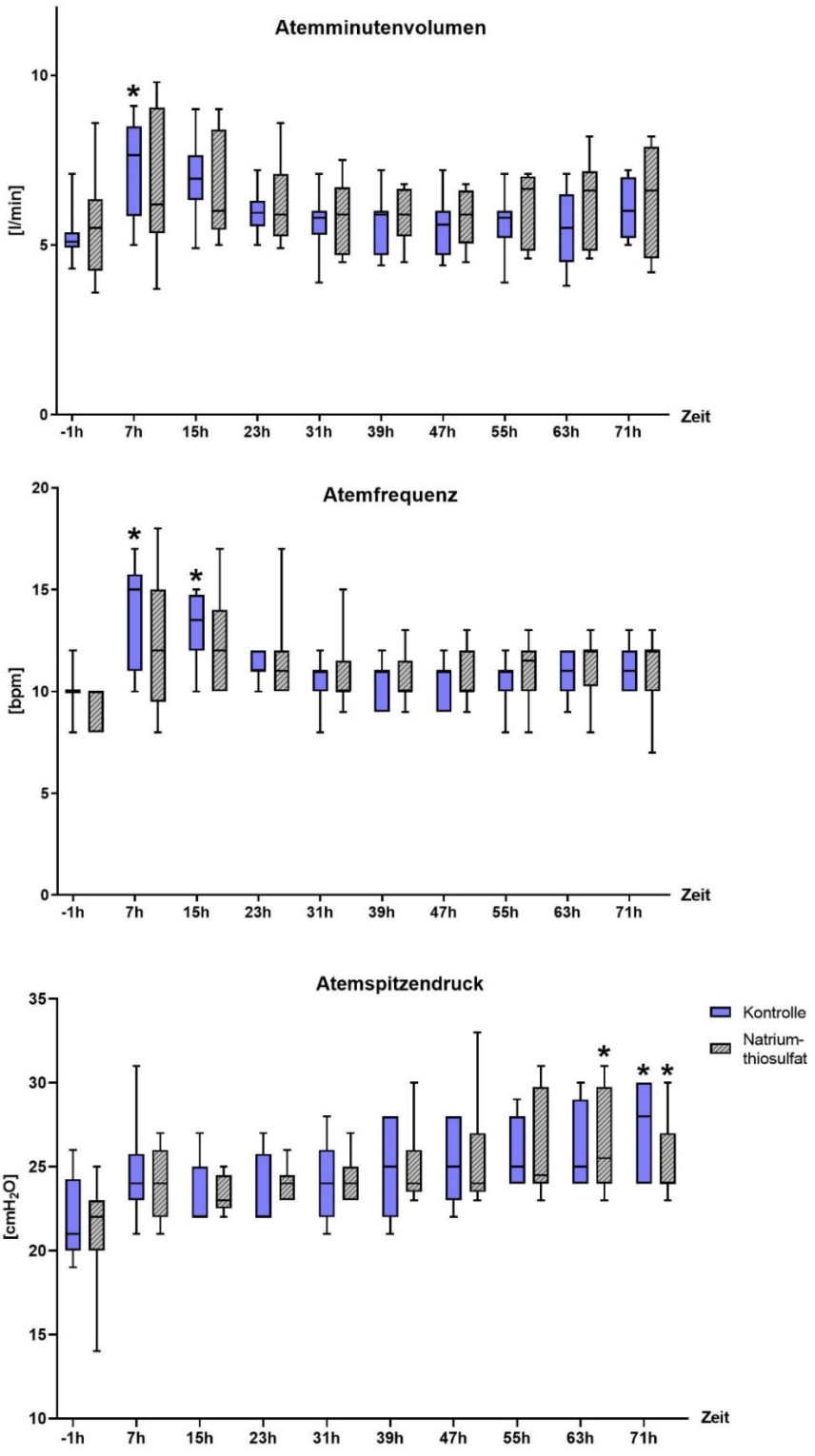

Abbildung 16: Grafische Darstellung der Beatmungsparameter. Interventionsgruppe (Natriumthiosulfat) mit n = 9 Schweinen und Kontrollgruppe (NaCl) mit n = 8 Schweinen. **#p** < 0,05 Interventions- gegenüber Kontrollgruppe, ***p** < 0,05 im Vergleich zum Messpunkt -1h. l = Liter, min = Minute, bpm = beats per minute (z. Dt. Schläge pro Minute), cmH_2O = Zentimeter Wassersäule, h = Stunde. Modifiziert nach Messerer et al. 2022 [32], CC BY 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

Zudem konnte der Horovitz-Quotient als Verhältnis des Sauerstoffpartialdrucks zur inspiratorischen Sauerstoffkonzentration zu den MP 0h, 3h, 24h, 48h sowie 68h erhoben werden. Auch hier sind keine signifikanten Unterschiede zu verzeichnen (siehe Abbildung 17) [32].

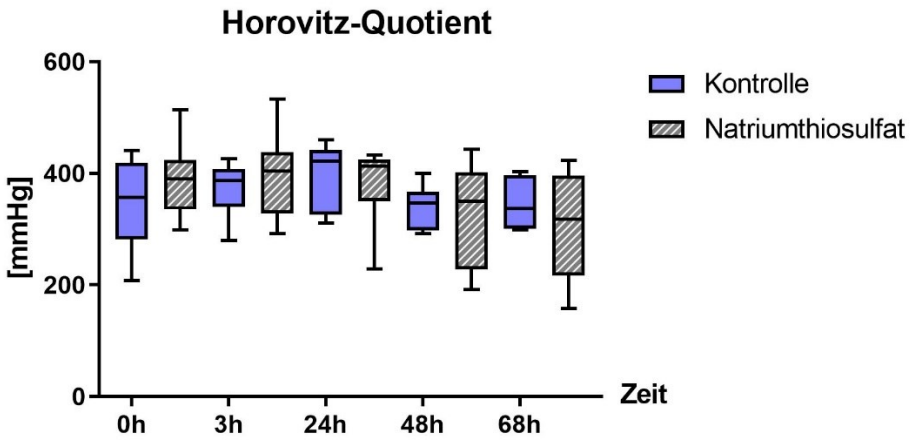

Abbildung 17: Grafische Darstellung des Horovitz-Quotienten. Interventionsgruppe (Natriumthiosulfat) mit n = 9 Schweinen und Kontrollgruppe (NaCl) mit n = 8 Schweinen. **#p** < 0,05 Interventions- gegenüber Kontrollgruppe, ***p** < 0,05 im Vergleich zum Messpunkt 0h. mmHg = Millimeter-Quecksilbersäule, h = Stunde. Modifiziert nach Messerer et al. 2022 [32], CC BY 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

3.5 Blutgasanalyse und Metabolismus

Die Parameter der BGA wurden zu den Messpunkten 0h, 3h, 24h, 48h sowie 68h erhoben. Dazu gehörten die Parameter pH-Wert, Kohlenstoffdioxid- und Sauerstoffpartialdruck, der Base Excess, die Elektrolyte Natrium, Kalium und Calcium und die metabolischen Parameter Glukose und Laktat. Im Vergleich beider Gruppen miteinander zeigte sich zum MP 24h ein signifikanter Unterschied der Laktatkonzentration mit erhöhten Werten in der Interventionsgruppe (siehe Abbildung 18) [32]. Auch die Elektrolyte Natrium und Kalium waren in der Interventionsgruppe intermittierend erhöht (siehe Tabelle 1). Zum Experimentsende hatten sich jedoch alle Konzentrationen im Gruppenvergleich sowie zum Ausgangswert angeglichen.

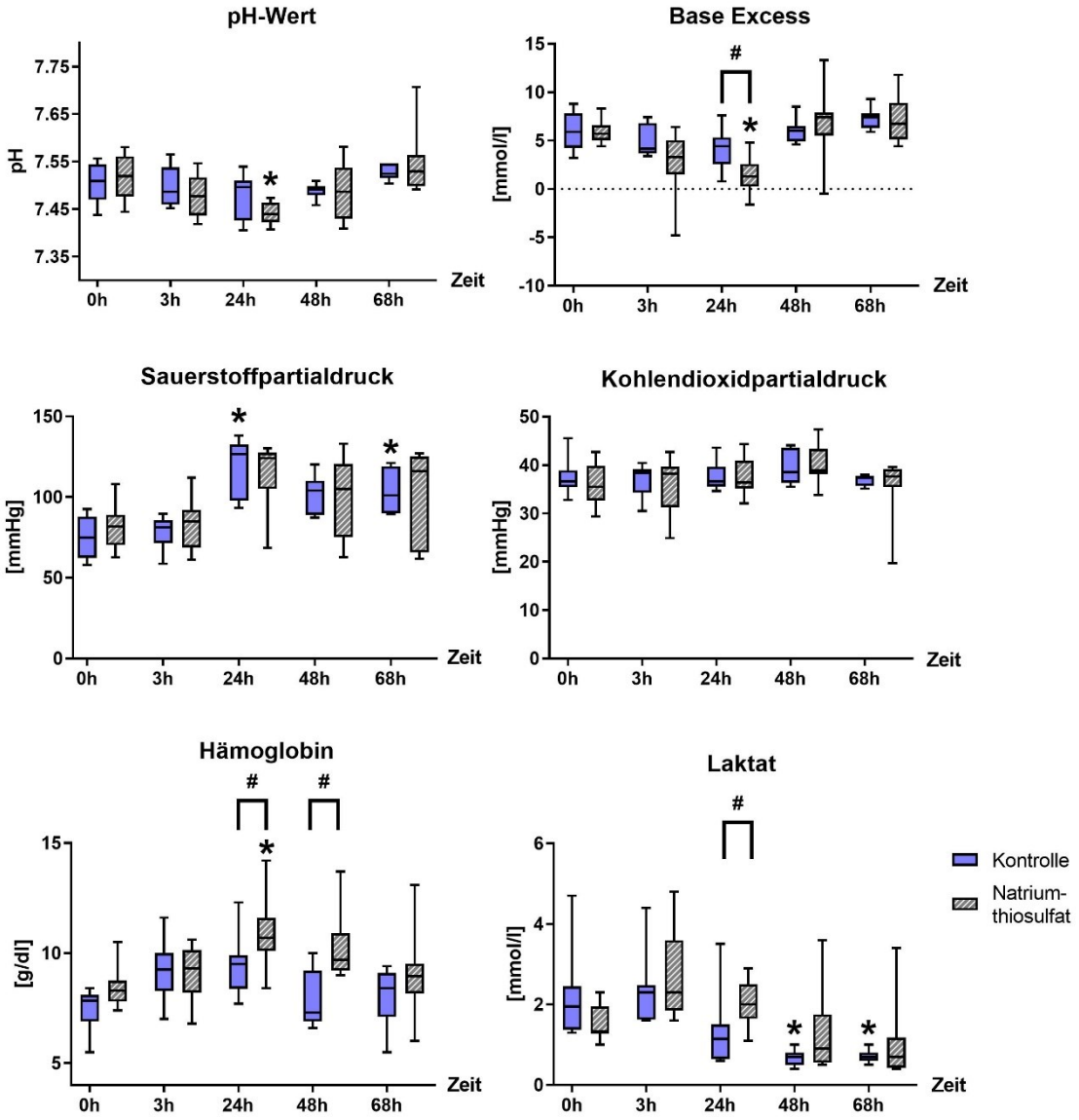

Abbildung 18: Grafische Darstellung des pH-Wert, des Base Excess, der Sauerstoff- und Kohlenstoffdioxidpartialdrücke, des Hämoglobins sowie des Laktats. Interventionsgruppe (Natriumthiosulfat) mit n = 9 Schweinen und Kontrollgruppe (NaCl) mit n = 8 Schweinen. **#p** < 0,05 Interventions- gegenüber Kontrollgruppe, ***p** < 0,05 im Vergleich zum Messpunkt 0h. mmol = Millimol, l = Liter, mmHg = Millimeter-Quecksilbersäule, g= Gramm, dl = Deziliter, h = Stunde. Modifiziert nach Messerer et al. 2022 [32], CC BY 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

Im gruppeninternen Vergleich fiel der Kaliumkonzentrationsverlauf auf. In der Kontrollgruppe kam es zu einem Anstieg des Kaliums zum MP 3h, welcher in der Interventionsgruppe erst verzögert zum MP 48h auftrat (siehe Tabelle 1). Die Glukose

wurde im Verlauf der Experimente in beiden Gruppen wie zu erwarten metabolisiert und sank in ihrer Konzentration im Verlauf signifikant ab [32].

Tabelle 1: Elektrolyte und Blutglukose. Die Erhebung erfolgte in der Kontroll- und Natriumthiosulfat-Gruppe zu den Messpunkten. Dargestellt sind die Elektrolyte Natrium (Na^+), Kalium (K^+) und Calcium (Ca^{2+}) sowie die Glukose. Dargestellt sind jeweils Median sowie 1.- und 3.-Quartil. Signifikante Unterschiede zwischen der Kontroll- und Natriumthiosulfat-Gruppe sind mit # markiert. Signifikante Unterschiede innerhalb der Gruppe zum Ausgangswert sind mit * markiert. Es wurde stets ein Signifikanzniveau von p <0,05 angenommen. mmol = Millimol, l = Liter, mg = Milligramm, dl = Deziliter, h = Stunde K = Kontrollgruppe, T = Natriumthiosulfat-Gruppe. Modifiziert nach Messerer et al. 2022 [32], CC BY 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

		0h	***3h***	***24h***	***48h***	***68h***
Na^+ *[mmol/l]*	K	**144** (142; 145)	**142** (141; 146)	**146#** (144; 147)	**142** (141; 145)	**143** (136; 145)
	T	**143** (142; 143)	**143** (143; 146)	**150#*** (148; 152)	**144** (139; 148)	**144** (137; 147)
K^+ *[mmol/l]*	K	**3,0** (2,8; 3,2)	**3,6#*** (3,4; 3,6)	**3,4*** (3,2; 3,7)	**3,2#** (3,2; 3,4)	**3,4** (3,0; 3,5)
	T	**3,1** (2,9; 3,2)	**3,3#** (3,2; 3,4)	**3,3** (3,1; 3,6)	**3,5#*** (3,4; 3,7)	**3,3** (3,2; 3,7)
Ca^{2+} *[mmol/l]*	K	**0,73** (0,57; 0,80	**0,64** (0,57; 0,86)	**0,57** (0,49; 0,69)	**0,55** (0,51; 0,56)	**0,63** (0,53; 0,90)
	T	**0,69** (0,63; 0,75)	**0,58** (0,54; 0,68)	**0,58** (0,51; 0,68)	**0,60** (0,55; 0,84)	**0,63** (0,52; 0,79)
Glukose *[mg/dl]*	K	**98** (91; 108)	**109** (98; 118)	**94** (72; 135)	**67** (60; 83)	**59*** (58; 64)
	T	**109** (89; 115)	**108** (99; 132)	**98** (83; 125)	**71** (67; 84)	**70*** (56; 75)

Der respiratorische Quotient als Verhältnis zwischen ausgeatmetem CO_2 und aufgenommenen O_2 zeigte in beiden Versuchsarmen einen Abfall vom Ausgangswert aus (nur in der Kontrollgruppe signifikant) (siehe Abbildung 19) [32].

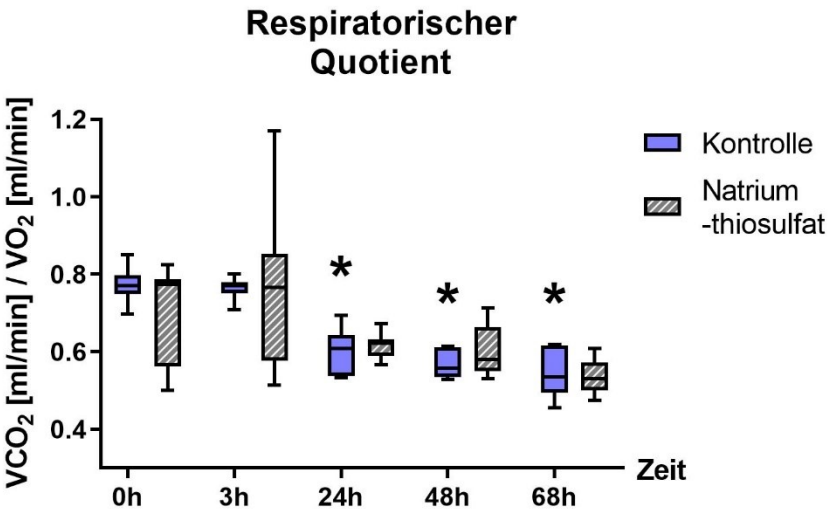

Abbildung 19: Grafische Darstellung des respiratorischen Quotienten. Interventionsgruppe (Natriumthiosulfat) mit n = 9 Schweinen und Kontrollgruppe (NaCl) mit n = 8 Schweinen. **#p** < 0,05 Interventions- gegenüber Kontrollgruppe, ***p** < 0,05 im Vergleich zum Messpunkt 0h. VO_2 = Sauerstoffaufnahme, VCO_2 = Kohlendioxidabgabe, ml = Milliliter, min = Minute, h = Stunde. Modifiziert nach Messerer et al. 2022 [32], CC BY 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

3.6 Blutbild

Das Blutbild wurde bei allen Tieren zu den MP 0h, 3h, 24h, 48h und 68h mit den Messparametern Erythrozyten-Konzentration, Hämoglobin-Gehalt sowie die Konzentrationen von Leukozyten und Thrombozyten erhoben. Die Konzentration an Erythrozyten und der Hämoglobin-Gehalt zeigten sich in der Interventionsgruppe signifikant höher zum MP 24h und 48h als die in der Kontrollgruppe (siehe Abbildung 18 und Tabelle 2) [32]. Die Leukozyten-Konzentration zeigte zum MP 24h in der Interventionsgruppe einen signifikant höheren Wert als in der Kontrollgruppe [32].

Tabelle 2: Parameter des Blutbildes. Die Erhebung erfolgte in der Kontroll- und Natriumthiosulfat-Gruppe zu den Messpunkten. Dargestellt sind die Parameter Erythrozyten-Konzentration (ERY), Leukozyten-Konzentration (LEU) und Thrombozyten-Konzentration (THRO). Dargestellt sind jeweils Median sowie 1.- und 3.-Quartil. Signifikante Unterschiede zwischen der Kontroll- und Natriumthiosulfat-Gruppe sind mit # markiert. Signifikante Unterschiede innerhalb der Gruppe zum Ausgangswert sind mit * markiert. Es wurde stets ein Signifikanzniveau von p <0,05 angenommen. l = Liter, h = Stunde, K = Kontrollgruppe, T = Natriumthiosulfat-Gruppe. Modifiziert nach Messerer et al. 2022 [32], CC BY 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

		0h	***3h***	***24h***	***48h***	***68h***
ERY *[Tera/l]*	K	**3,8#** (3,3; 4,4)	**4,5** (4,1; 5,2)	**4,8#** (4,2; 4,9)	**3,6#** (3,4; 4,8)	**4,1** (3,5; 4,9)
	T*	**4,5#** (3,9; 5,0)	**5,0** (4,1; 5,6)	**5,9#*** (5,0; 6,1)	**5,3#** (4,9; 5,8)	**4,6** (4,4; 5,5)
LEU *[Giga/l]*	K	**16** (8; 19)	**14** (12; 19)	**15#** (9; 16)	**11** (8; 14)	**12** (5; 18)
	T*	**14** (12; 17)	**19** (14; 20)	**21#** (16; 28)	**13** (11; 13)	**10** (9; 16)
THRO *[Giga/l]*	K	**235** (193; 271)	**226** (211; 269)	**221** (170; 268)	**268** (129; 315)	**250** (83; 330)
	T	**238** (169; 340)	**251** (215; 316)	**248** (181, 311)	**169** (112; 267)	**157** (76; 222)

3.7 Nierenfunktion

Um die Nierenfunktion zu untersuchen, wurde das Harnvolumen sowie das Kreatinin im Plasma bestimmt und daraus die Kreatinin-Clearance berechnet. Im Vergleich der Parameter zwischen den zwei Gruppen ergaben sich wenige Signifikanzen (siehe Abbildung 20). Das Harnvolumen unterschied sich zum MP 24h signifikant im Gruppenvergleich. Dabei lag das Harnvolumen in der Interventionsgruppe über dem in der Kontrollgruppe. Die Kreatinin-Clearance zeigte keine signifikanten Unterschiede [32].

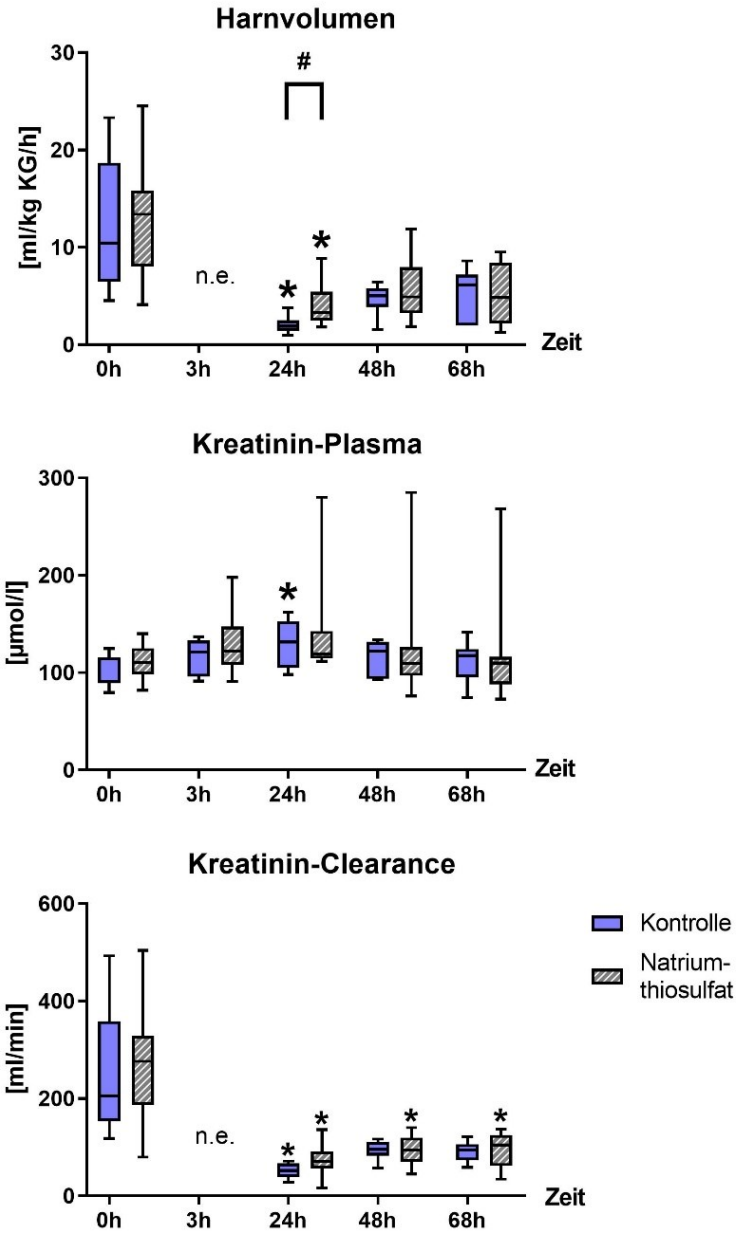

Abbildung 20: Grafische Darstellung der Parameter der Nierenfunktion. Interventionsgruppe (Natriumthiosulfat) mit n = 9 Schweinen und Kontrollgruppe (NaCl) mit n = 8 Schweinen. **#p** < 0,05 Interventions- gegenüber Kontrollgruppe, ***p** < 0,05 im Vergleich zum Messpunkt 0h. ml = Milliliter, kg = Kilogramm, KG = Körpergewicht, h = Stunde, µmol = Mikromol, l = Liter, min = Minute, n.e. = Nicht erhoben. Modifiziert nach Messerer et al. 2022 [32], CC BY 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

In der gruppeninternen Analyse fiel insbesondere der signifikante Abfall der Harnvolumens nach dem HS zum MP 24h auf. Im Verlauf erholte sich die Harnproduktion in beiden Gruppen gering und konnte letztendlich zum Versuchsende die Ausgangsdaten nicht erreichen. Dies ließ sich auch in der berechneten Kreatinin-Clearance darstellen.

3.8 Leberfunktion

Für die Leberfunktion wurden zum einen die Aktivitäten der Transaminasen Aspartat-Aminotransferase (AST) und Alanin-Aminotransferase (ALT) bestimmt, sowie weiterhin die Konzentration des Gesamtbilirubin. Der De-Ritis-Quotient konnte als Verhältnis von AST zu ALT berechnet werden. Signifikante Unterschiede waren im Gruppenvergleich im Ausgangswert der Gesamtbilirubin-Konzentration sichtbar mit höheren Werten in der Interventionsgruppe (siehe Abbildung 21). Obwohl die Aktivitäten der AST und ALT keine signifikanten Unterschiede zeigten [32], stellte sich im De-Ritis-Quotienten zum MP 0h sowie 3h eine Signifikanz dar.

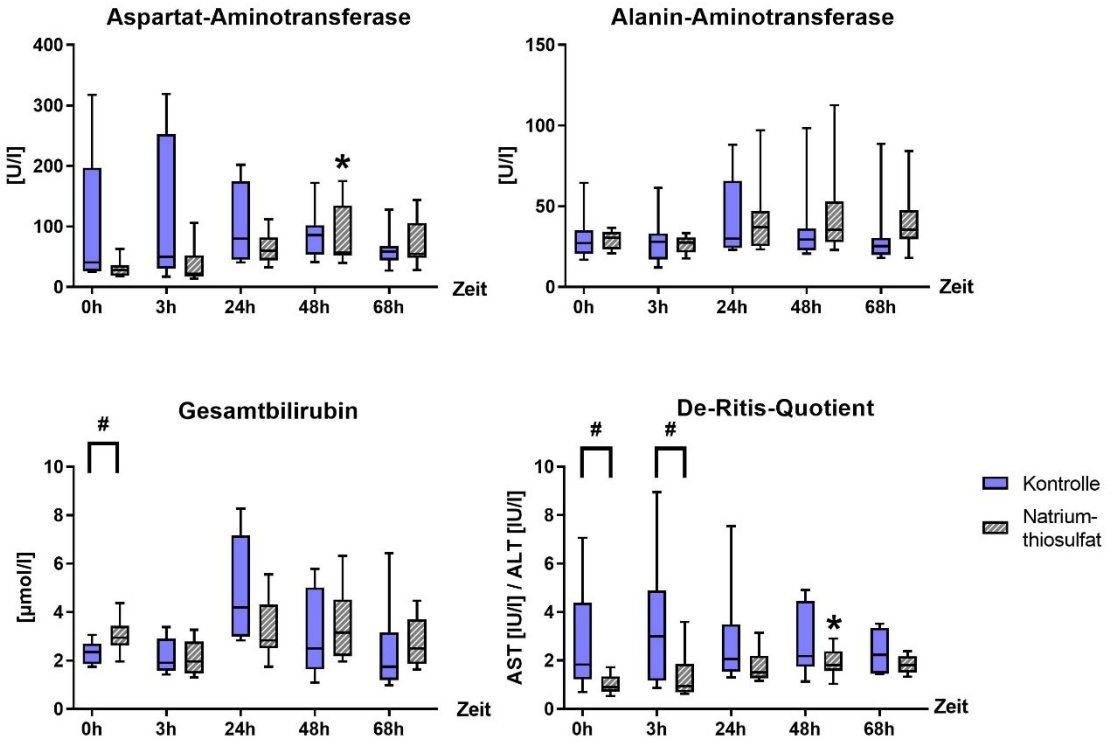

Abbildung 21: Grafische Darstellung der Parameter der Leberfunktion. Interventionsgruppe (Natriumthiosulfat) mit n = 9 Schweinen und Kontrollgruppe (NaCl) mit n = 8 Schweinen. **#p** < 0,05 Interventions- gegenüber Kontrollgruppe, ***p** < 0,05 im Vergleich zum Messpunkt 0h. U = Unit, l = Liter, µmol = Mikromol, AST = Aspartat-Aminotransferase, ALT = Alanin-Aminotransferase, h = Stunde. Modifiziert nach Messerer et al. 2022 [32], CC BY 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/**.**

3.9 Mortalität

Das Gesamtüberleben lag im Median bei 4500 (4455; 4505) Minuten, welches den 72h Experimentdauer plus drei Stunden Instrumentierung und Vorbereitung entsprach (siehe

Abbildung 22). In der Interventionsgruppe verstarben zwei Tiere frühzeitig. Ein Tier verstarb an einer elektromechanischen Entkopplung. Bei dem anderen Tier musste das Experiment frühzeitig beendet werden, da Abbruchkriterien für ein ARDS erfüllt waren. In der Kontrollgruppe verstarb ein Tier bei vorliegendem ARDS und Tachykardie. Ein signifikanter Unterschied des Überlebens konnte ausgeschlossen werden (p = 0,85) [32].

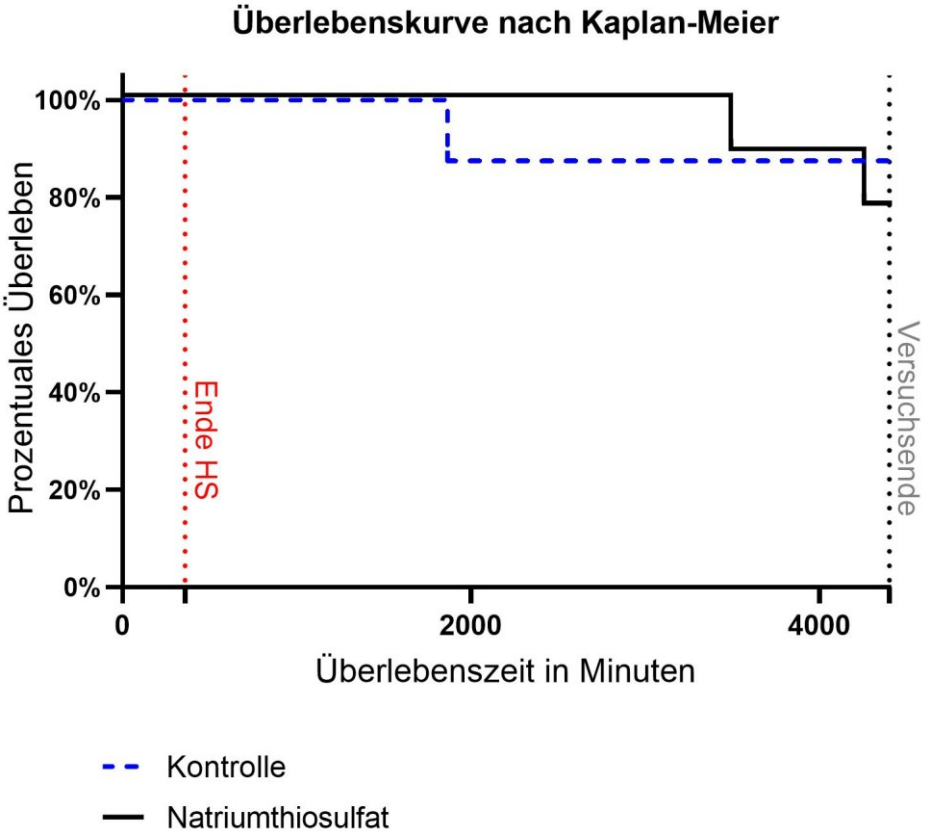

Abbildung 22: Kaplan-Meier Überlebenskurve. Interventionsgruppe (Natriumthiosulfat) mit n = 9 Schweinen und Kontrollgruppe (NaCl) mit n = 8 Schweinen. Das Überleben über 4500 Minuten hinaus wurde nicht dargestellt. In Rot das Ende des hämorrhagischen Schocks (HS). % = Prozent. Modifiziert nach Messerer et al. 2022 [32], CC BY 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/**.**

4 DISKUSSION

In dieser Studie wurde in einem Großtierversuch der Effekt von Natriumthiosulfat im Langzeitversuch anhand eines traumatischen hämorrhagischen Schocks an Schweinen im Setting einer intensivmedizinischen Betreuung untersucht. Dabei wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Applikation des Studienmedikaments Natriumthiosulfat ($Na_2S_2O_3$) zu einem verbesserten Überleben sowie zu einem klinisch besseren Outcome nach einem HS führt als in der Kontrollgruppe. Das Outcome wurde gemessen anhand klinischer und laborchemischer Parameter, welche Aussagen über die Funktionalität von Herz-Kreislauf, Lunge, Niere und Leber zuließen. Es konnte zusammenfassend weder ein Vorteil auf das Gesamtüberleben noch eine verbesserte Organfunktion festgestellt werden [32].

4.1 Das Versuchsmodell

Hier wurde wie bereits in der Vorstudie von Datzmann et al. [9], das Großtiermodell des Schweins genutzt [32]. Schweine teilen eine große biologische Homologie mit dem Menschen. In dieser Versuchsreihe wurde die BMW-Rasse genutzt, da bei ihr eine reduzierte Aktivität des von-Willebrand-Faktors vorliegt. Somit ähnelt das Gerinnungssystem der BMW-Schweine dem des Menschen und die verbesserte Übertragbarkeit auf den menschlichen Organismus ist anzunehmen. Auch in der Handhabung der Großtiere bieten Schweine Vorteile gegenüber Nagern oder anderen Tieren. Die Größe der Instrumentarien, die Dosierungen der Medikamente aber auch die Möglichkeit einer engmaschigen Blutprobenentnahme ist vergleichbar mit denen des erwachsenen Traumapatienten. Das Team des durchführenden Instituts war mit dem Versuchsmodell des Schweins bereits aufgrund vieler Vorstudien vertraut [9; 10; 23; 39]. Zur Herbeiführung des HS wurden 30 % des geschätzten Blutvolumens der Tiere entnommen. Laut Mutschler et al. treten symptomatische Veränderungen mit Hypotonie, Tachykardie und Bewusstseinsstörungen ab einem Blutverlust von 30 bis 40 % auf [37]. Daher wurde hier der Zielwert bei einem ungefähren Blutverlust von 30 % gewählt. Mit 39 % in der Kontrollgruppe und 32 % in der Interventionsgruppe konnten diese Vorgaben erfüllt werden ohne einen signifikanten Unterschied im Gruppenvergleich [32]. Durch die Anwendung dieses Versuchsmodells mit direkter Abnahme des Blutvolumens durch einen vorher etablierten Zugang, konnten die Auswirkungen der Hämorrhagie allein untersucht werden. Eine Beeinflussung durch weitere Traumafolgen kann damit ausgeschlossen

werden. Das Interventionsmedikament Natriumthiosulfat initiiert als indirekter Donor die endogene Freisetzung von H_2S [51]. Damit hat $Na_2S_2O_3$ gegenüber anderen H_2S-Donoren den Vorteil, keine Spitzenkonzentrationen von H_2S herbeizuführen [54]. In der intravenösen Applikationsform bietet $Na_2S_2O_3$ eine gute Verträglichkeit sowie einen erwiesenen Nutzen in der Behandlung anderer Krankheitsbilder [2; 4; 44]. Die Experimente wurden auf einer voll ausgestatteten institutseigenen Tier-Intensivstation durchgeführt. Die Gerätschaften sowie Instrumentarien und Medikamente waren die gleichen, wie sie in der Humanmedizin benutzt werden.

4.2 Die Studienergebnisse

Die Gabe von $Na_2S_2O_3$ nach einem HS zeigte weder ein verlängertes Überleben noch einen positiven Effekt auf die Hämodynamik oder den Metabolismus. Aus den analysierten Parametern lassen sich keine organprotektiven Ergebnisse für Herz, Leber, Lunge oder Nieren ableiten [32].

Die Körpertemperatur zeigte gruppenintern einen signifikanten Anstieg unter iatrogener Erwärmung im Verlauf [32]. Zum MP 31h und 39h präsentierte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen mit erhöhten Körpertemperaturen in der Natriumthiosulfat-Gruppe. In der Literatur wurde eine durch H_2S-induzierten Hypothermie und ein induzierter Hypometabolismus beschrieben [3]. Eine reduzierte metabolische Aktivität verbessert das Outcome in vielen klinischen Verletzungsmustern und Erkrankungen [36]. Jedoch konnte dieser Effekt in dieser Versuchsreihe wie auch bei den Vorversuchen durch Datzmann et al. nicht nachgewiesen werden [9]. Drabek et al. zeigten, dass sich durch den H_2S-Donor Hydrogensulfid kein Hypometabolismus im Rahmen einer Hypothermie induzieren ließ [11]. Dies steht im Widerspruch mit dem durch Simon et al. berichteten „hibernation/ suspended animation-like status“ unter H_2S [49] sowie entgegen der Hypothesen anderer Autoren in unterschiedlichen Versuchsmodellen [3; 36; 42; 49].

4.2.1 Sulfid-Konzentration

In der Interventionsgruppe zeigte sich eine signifikant höhere Sulfid-Konzentrationen als in der Kontrollgruppe. Damit lässt sich bestätigen, dass $Na_2S_2O_3$ als H_2S-Donor geeignet ist, da es zum MP 24h zu einer Sulfid-Spitzenkonzentration in der Interventionsgruppe kam. Weiterhin zeigte sich, dass der Effekt nur von sehr kurzer Dauer war. Bereits zum

MP 48h ließ sich kein signifikanter Unterschied der Gruppen gegeneinander feststellen. Wepler et al. beschrieben den flüchtigen Effekt der Schwefelwasserstoff-Donoren, in ihrem Fall von AP39 [54]. Sulfid ist ein Metabolit von Schwefelwasserstoff. Ob die biologischen Effekte durch H_2S selbst oder durch seine Metabolite ausgeführt werden, ist nach wie vor unklar [43]. Auch inwiefern die hier gemessene Spitzenkonzentration zum MP 24h zu einer möglichen Hyperinflammationsreaktion geführt haben könnte, ist aktuell schwer zu beurteilen. In bisherigen Studien wurde wiederholt von einer induzierten Inflammation durch H_2S und H_2S-Donoren in unterschiedlichen Versuchsabläufen und Tiermodellen berichtet [25; 34; 55]. Passend dazu zeigten sich in den hier vorliegenden Ergebnissen Leukozyten-Höchstkonzentration zum MP 24h in der Natriumthiosulfat-Gruppe [32]. Dies lässt sich als ein Zeichen einer erfolgten Inflammation und Stressreaktion werten. Weitere negative Auswirkungen auf die Organfunktionen von Leber, Lunge und Nieren konnten zum MP 24h jedoch nicht beobachtet werden [32]. Entsprechend scheint der Effekt einer möglichen Hyperinflammation auf die Organfunktion in unseren Versuchen vernachlässigbar.

4.2.2 Hämodynamik und Noradrenalin-Bedarf

Der HS führte zu einem Abfall des Blutdrucks mit reflektorischem Anstieg der Herzfrequenz. Signifikante Unterschiede gab es dabei zum MP 31h und MP 39h. In der Natriumthiosulfat-Gruppe blieb die Herzfrequenz länger erhöht als in der Kontrollgruppe. Der mittlere arterielle Blutdruck war zum MP 39h ebenfalls in der Interventionsgruppe niedriger. Das HZV sank zum Ende der Hämorrhagie (MP 3h) auf ein Minimum in beiden Gruppen. In der Interventionsgruppe kam es zum MP 24h zu einer signifikant verbesserten Erholung als in der Kontrollgruppe [32]. Diese Reaktionen waren als Folge eines HS zu erwarten gewesen. Daran zeigt sich, dass die ausgelöste Hämorrhagie mit einem Zielblutverlust von 30 % des Gesamtblutvolumens ausreichend gewesen ist, um eine entsprechend schwere und repräsentative Reaktionen auszulösen. Die Ergebnisse decken sich mit denen aus der Vorstudie von Datzmann et al. in kardiovaskular vorerkrankten Tieren [9]. Beide Gruppen verbrauchten ähnliche Mengen Noradrenalin, um den mittleren Blutdruck innerhalb der Zielgrenzwerte zu halten. Der Unterschied des Verbrauchs lag bei 0.1 µg/kg KG/min Noradrenalin, welcher in der Interventionsgruppe mehr verbraucht wurde [32]. In der Literatur zeigen sich sowohl ähnliche als auch gegenteilige Daten. Datzmann et al. konnten ebenfalls keinen Unterschied des

Vasopressoren-Bedarfs in kardiovaskulär erkrankten Schweinen unter $Na_2S_2O_3$ feststellen. Satterly et al. sowie Simon et al. berichteten von einem geringeren Vasopressoren-Bedarf unter H_2S-Donoren [45; 49]. Wepler et al. zeigten sogar einen erhöhten Vasopressoren-Bedarf unter Gabe des H_2S-Donors AP39 [54]. Auch der durch Simon et al. beschriebene Effekt eines „hibernation/ suspended animation-like status“, z. Dt. eines Zustands des „Winterschlafs“, bzw. des „Scheintods“ mit Bradykardie und Abfall des HZV [49], konnte hier nicht festgestellt werden. Insgesamt waren die hämodynamischen Auswirkungen von $Na_2S_2O_3$ mit einer kurzzeitig erhöhten HF sowie einem kurzzeitig geringeren MAP nur gering. Auch der ZVD zeigte keine signifikanten Unterschiede. Aus dieser Beobachtung lassen sich weder positive noch negative Effekte von $Na_2S_2O_3$ auf die Hämodynamik ableiten [32].

4.2.3 Beatmung und Lungenfunktion

Im Vergleich der beiden Gruppen miteinander zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der Beatmung und Lungenfunktion [32]. Der durch Datzmann et al. in kardiovaskulär vorerkrankten Schweinen beschriebene positive Effekt auf die Lungenfunktion [9] konnte hier nicht dargestellt werden. Atemminutenvolumen, Atemfrequenz sowie der Atemspitzendruck ergaben im Gruppenvergleich keine signifikanten Unterschiede [32]. Gruppenintern kam es, wie es nach einem HS zu erwarten gewesen ist, zu einem Anstieg des AMV, der AF sowie des pPeak in beiden Gruppen zum MP 7h und 15h. Der Horovitz-Quotient wurde als Parameter der Lungenfunktion erhoben. Auf Basis dessen lässt sich eine mögliche Lungenschädigung sowie das Ausmaß ableiten. Datzmann et al. konnten einen signifikant höheren Horovitz-Quotienten und damit eine verbesserte Lungenfunktion in der Interventionsgruppe zum MP 48h feststellen [9]. Aufgrund dieses Ergebnisses wurde ein lungenprotektiver Effekt von $Na_2S_2O_3$ in kardiovaskulär vorerkrankten Schweinen angenommen [9]. Auch weitere Autoren beschrieben einen positiven Effekt von intravenösen H_2S auf die Lunge [7; 15; 43]. In dieser Studie kann kein lungenprotektiver Effekt festgestellt werden [32]. Jedoch kann auch kein lungentoxischer Effekt durch $Na_2S_2O_3$ bestätigt werden, wie dieser in anderen Studien beschrieben worden ist [15; 34].

4.2.4 Blutgasanalyse und Metabolismus

Bei der Auswertung der BGA fiel auf, dass sich der pH-Wert beider Gruppen kaum unterschied. Dieser lag im Durchschnitt in der Kontrollgruppe bei 7,50 und in der Interventionsgruppe bei 7,49. Auch das Laktat befand sich bei maximal 2,3 mmol/l in beiden Gruppen. Lediglich zum MP 24h war das Laktat mit 2,0 mmol/l in der Interventionsgruppe signifikant höher als in der Kontrollgruppe. Es kam es in beiden Gruppen nicht zur Entwicklung einer Laktatazidose [32]. Eine Laktatazidose kann als ein Zeichen eines akuten Organversagens gewertet werde, welches in der Studie nicht bestätigt werden konnte. Der Base Excess zeigte einen signifikant höheren Wert in der Kontrollgruppe zum MP 24h [32]. Dieser Effekt konnte bereits durch Datzmann et al. detektiert werden [9]. Der BE zeigte ausschließlich positive Werte in beiden Gruppen. Entsprechend lag ein Basenüberschuss mit geringgradiger metabolischer Alkalose vor. Auch dies spricht gegen das Vorliegen einer möglichen Laktatazidose und gegen ein akutes Organversagen in beiden Gruppen. Der p_aO_2 sowie der p_aCO_2 zeigten im Gruppenvergleich keine Unterschiede. Die Glukose sank in beiden Gruppen in einem ähnlichen Ausmaß ohne signifikante Unterschiede zum Versuchsende hin ab [32].

Der respiratorische Quotient wurde als Verhältnis zwischen ausgeatmetem CO_2 und aufgenommenen O_2 erhoben. Damit lässt die Berechnung des RQ eine Aussage über die Kohlenstoffdioxidbildung und Sauerstoffaufnahme im Körper treffen. Der RQ ist nahrungsabhängig. Die Tiere erhielten dieselbe Nahrung und wurden nach einem festgelegten Schema vergleichbar beatmet. Damit kann indirekt durch den RQ die metabolische Belastung durch eine erhöhte Kohlenstoffdioxidbildung abgeschätzt werden. Der RQ sank in der Kontrollgruppe im Verlauf signifikant zum Ausgangswert ab. In der Interventionsgruppe kam es ebenfalls zu einem Absinken, jedoch ohne Signifikanz. Es wurde trotz dem HS keine erhöhte körperliche Belastung durch erhöhte Kohlenstoffdioxidbildung der Tiere in beiden Gruppen festgestellt [32].

Der Hämoglobin-Gehalt zeigte sich in der Interventionsgruppe zum MP 24h und 48h im Gruppenvergleich erhöht [32]. Ein möglicher Erklärungsansatz wäre eine Hämokonzentration durch Abnahme des Plasmas im Rahmen einer erhöhten Permeabilitätsstörung. $Na_2S_2O_3$ reguliert als Donor des Schwefelwasserstoffs unterschiedliche biologische Prozesse, wie unter anderem auch die

Inflammationsreaktion [26; 30]. Die Inflammation beeinflusst die Permeabilitätsdurchlässigkeit der Zellmembranen. Es kommt in der Inflammation zu einem Flüssigkeitsverlust in den extravasalen Raum und damit zu einer Konzentrierung des Hämoglobins im Blut [23]. Dieser Effekt zeigte sich hier abgebildet in der BGA mit erhöhten Hämoglobinwerten.

Ebenfalls signifikant erhöht im Gruppenvergleich präsentierte sich die Natriumkonzentration zum MP 24h. Auch hier könnte der Effekt der Konzentrierung durch die Flüssigkeitsverschiebung in den extravasalen Raum ursächlich sein. Gegen diese Theorie spricht, dass die weiteren Elektrolyte Kalium und Calcium zum MP 24h in der Interventionsgruppe keine erhöhten Konzentrationen aufwiesen. Die Kaliumkonzentration zeigte sich in der Kontrollgruppe zum MP 3h direkt nach dem hämorrhagischen Schock signifikant erhöht. In der Interventionsgruppe lag die Kalium-Höchstkonzentration versetzt zum MP 48h. Möglicherweise kam es in der Interventionsgruppe bedingt durch die Natriumthiosulfat-Gabe verzögert zu einer Hyperinflammationsreaktion mit erhöhtem Zellverfall und damit Anstieg des Kaliums zum MP 48h. Insgesamt lässt sich jedoch festhalten, dass sich die Kaliumkonzentrationen jederzeit im niedrigen bzw. physiologischen Referenzbereich befunden haben. Indirekte Hinweise auf eine akute Nierenschädigung wie eine Hyperkaliämie konnten damit nicht festgestellt werden. Auch der Effekt eines möglichen Zellverfalls ist sehr gering. Aufgrund dessen lässt sich von der Kaliumkonzentration nicht auf mögliche toxische Effekte des $Na_2S_2O_3$ schließen. Weiterhin trat ein Kalium-Höchstkonzentration ebenfalls in der Kontrollgruppe wie oben beschrieben, jedoch zeitversetzt auf. Insgesamt zeigt sich der Metabolismus der Tiere durch $Na_2S_2O_3$ nicht positiv beeinflusst.

4.2.5 Blutbild

Auch im venös abgenommenen Blutbild ließ sich die Hämokonzentration anhand der Erythrozyten-Konzentrationen nachvollziehen. Denn auch die Erythrozyten zeigten sich in der Interventionsgruppe zu dem MP 0h, 24h sowie 48h im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht. Die Thrombozyten-Konzentrationen zeigte hingegen keine signifikanten Unterschiede. Die Leukozyten-Konzentrationen stellte sich zum MP 24h in der Natriumthiosulfat-Gruppe signifikant erhöht dar [32]. Dies lässt sich im Rahmen einer möglichen Stressleukozytose als Ausdruck der erhöhten Inflammationsreaktion durch die

Gabe von $Na_2S_2O_3$ interpretieren. Dieses Phänomen wurde bereits zuvor in der Literatur beschrieben [25; 34; 55].

4.2.6 Nieren- und Leberfunktion

Bei der Interpretation der Parameter der Nierenfunktion fällt ein signifikant niedrigeres Harnvolumen zum MP 24h in der Kontrollgruppe auf. In beiden Gruppen kam es posttraumatisch zu einem Abfall der Harnproduktion, jedoch in der Interventionsgruppe ohne Signifikanz. In der berechneten Kreatinin-Clearance schlug sich dieser Effekt nicht nieder. Dort waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen messbar. Es zeigte sich durch die Natriumthiosulfat-Gabe keine Verbesserung der renalen Funktion [32]. Dies steht im Einklang mit den Vorexperimenten durch Datzmann et al. [9] sowie der Ergebnisse von Satterly et al. [45]. Weiterhin lassen sich jedoch auch keine nephrotoxischen Effekte darstellen.

Die Leberfunktion wurde gemessen anhand der Aktivitäten der Leberenzyme sowie der Gesamtbilirubin-Konzentration. Im Vergleich beider Gruppen miteinander konnten diesbezüglich keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden [32]. Auffallend war jedoch, dass der De-Ritis-Quotient (AST/ALT) insbesondere zum MP 0h sowie 3h in der Kontrollgruppe signifikant höher war. Unter Betrachtung der Werte in beiden Gruppen lässt sich festhalten, dass es in beiden Gruppen bei De-Ritis-Werten >1 zu einer Schädigung des Leberparenchyms gekommen ist. Im Verlauf sank der Quotient zum Versuchsende wieder unterhalb der Grenzwerte des Versuchsbeginns. In Zusammenschau dessen lässt sich sagen, dass sie Leberschädigung ohne Relevanz und selbstlimitierend verlaufen ist. Auch konnte zum Versuchsende kein hepatoprotektiver Effekt in der Interventionsgruppe festgestellt werden, wie bereits durch die Literatur beschrieben wurde [9; 45].

4.2.7 Mortalität

Im Gesamtüberleben konnte kein signifikanter Unterschied ($p = 0,85$) zwischen der Kontrollgruppe und der Interventionsgruppe festgestellt werden. Es gab entsprechend unter der Therapie mit $Na_2S_2O_3$ im Vergleich zur Trägerlösung NaCl im Zeitraum bis 72h nach dem hämorrhagischen Schock keinen Überlebensvorteil [32]. Während der Versuchsdurchführung zeigte sich, dass aufgrund der geringen Fallzahl diese Studie nicht für eine Überlebensanalyse geeignet ist und die Ergebnisse der Mortalität mit einer

größeren Anzahl an Versuchstieren verifiziert werden sollte. Die durchgeführte Interimsanalyse führte zum Verwerfen der Nullhypothese. Aufgrund dessen wurden die Versuche vor Erreichen der statistischen Power abgebrochen [32]. In der Vorstudie von Datzmann et al. war die Anzahl der Versuchstiere vergleichbar (n = 10 Tiere). Dabei konnte ebenfalls kein Effekt auf die Mortalität nachgewiesen werden [9]. Auch Drabek et al. konnten in einer Versuchsgruppe von n = 8 Tieren unter Gabe von Schwefelwasserstoff im Schwein keinen signifikanten Überlebensvorteil feststellen [11]. Unter Gabe des H_2S-Donors AP39 hochdosiert kam es bei Wepler et al. sogar zu einer erhöhten Mortalität, unter Gabe von AP39 niedrigdosiert waren keine signifikanten Überlebensvorteile feststellbar. Die Größen der Versuchsgruppen waren vergleichbar [54].

4.3 Kontroverse zum Studienmodell

In dieser Studie geht es um Voruntersuchungen im Tiermodell für eine präklinische Therapie mit $Na_2S_2O_3$ im HS [32]. Um das Hauptproblem der langen Transportwege und erschwerten präklinischen Therapiemöglichkeiten, insbesondere im Setting des Militärs oder abgelegener medizinischer Versorgung, abbilden zu können, wurde hier eine lange Hämorrhagiezeit von 30 Minuten gewählt. Die erste Gabe von $Na_2S_2O_3$ bzw. der Trägerlösung NaCl erfolgte erst zwei Stunden posttraumatisch und die Retransfusion erst drei Stunden nach Induktion des HS [32]. Der Zeitpunkt der Interventionsgabe spielt eine große Rolle, wie bereits Wepler et al. beschrieben [54]. Dies erschwert die Vergleichbarkeit der einzelnen Studien miteinander mindestens genauso, wie die Wahl des H_2S-Donors selbst. Durch das gleiche Studiendesign sowie die gleichen Versuchsbedingungen, wie bei der Vorstudie von Datzmann et al. angewandt, ist ein Vergleich zwischen den hier untersuchten kardiovaskulär-gesunden Tieren gegenüber den kardiovaskulär-vorerkranken Tieren bei Datzmann et al. [9] zulässig. Jedoch ist ein Vergleich der Studien mit unterschiedlichen Applikationsformen, H_2S-Donoren, Zeitpunkten und Versuchsmodellen nur eingeschränkt möglich.

Nicht abbildbar sind mögliche Komorbiditäten von Traumapatienten/-innen, welche das Überleben sowie mögliche Auswirkungen auf die Organfunktionen maßgeblich beeinflussen können. Auch das Alter eines Traumapatienten/-in kann einen Einfluss auf das Outcome haben. In diesem Experiment wurden nur junge und mutmaßlich gesunde Tiere untersucht. Entsprechend kann damit die Realität nicht vollumfänglich abgedeckt

werden. Auch eine identische Simulation eines Traumas, wie beispielsweise einer Schussverletzung oder eines Verkehrsunfalls mit einer unkontrollierten Hämorrhagie, ist in einem Tiermodell nur schwer durchführbar. Im Versuchsmodell können immer nur Teilaspekte untersucht werden. In dieser Studie wurde sich auf eine kontrollierte Hämorrhagie beschränkt. Inwiefern eine unkontrollierte Hämorrhagie bzw. Begleitverletzungen das Outcome sowie die Organfunktionen zusätzlich beeinflussen, konnte hier nicht dargestellt werden. Die Tiere wurden bereits vor der Induktion des Traumas intubiert, beatmet und medikamentös narkotisiert. Dies entspricht nicht der Realität. Dies ist in einem Tierexperiment jedoch entscheidend, um das Tierwohl zu berücksichtigen. Unklar bleibt, inwiefern die totale intravenöse Anästhesie und die künstliche Beatmung die Stressantwort der Tiere beeinflusst haben könnte und damit die Messparameter verzerrt.

In dieser Studie kam es, wenn auch nicht signifikant, zu einer unterschiedlichen Schwere des HS. So wurden der Kontrollgruppe 39 % und der Interventionsgruppe 32 % des Gesamtblutvolumens entnommen. Unklar bleibt, inwiefern sich dieser Unterschied auf die Hämodynamik und das Überleben der Tiere ausgewirkt hat [32]. Aufgrund des verblindeten Studiendesigns ist dies als Zufallsereignis zu werten. Bei den hier verwendeten Versuchstieren lag eine von-Willebrand-Koagulopathie vor [38] mit einer reduzierten Aktivität des von-Willebrand-Faktors. Es ist unklar, inwiefern diese von-Willebrand-Koagulopathie die Untersuchungsergebnisse beeinflusst haben könnte [32]. Mit einer Beobachtungszeit von 72h posttraumatisch befasst sich diese Studie bereits mit einer längeren Studiendauer als viele andere Studien in der Literatur. Eine längere Beobachtung bzw. eine Beobachtung der Tiere nach Abschluss der intensivmedizinischen Therapie war ethisch und ökonomisch nicht vertretbar und durchführbar. Ein Großteil der Folgen eines hämorrhagischen Schocks treten jedoch im Zeitraum bis 72h nach einem Trauma auf [14; 24]. Dennoch ist ein Auftreten von Folgen des HS nach 72h möglich und nicht ausgeschlossen. Abschließend lässt sich festhalten, dass experimentelle Tierstudien nur kleine Fallzahlen umfassen. In Hinblick auf zukünftige Studien benötigt es eine größere Fallzahl um Signifikanzen, insbesondere in der Überlebensanalyse, feststellen zu können.

4.4 Schlussfolgerung der Studie

Diese Studie ist aufgrund der geringen Fallzahl nicht für eine Überlebensanalyse geeignet. Die Ergebnisse der Mortalität sollten mit einer größeren Anzahl an Versuchstieren zukünftig verifiziert werden. Zudem zeigte sich kein positiver Effekt auf die Hämodynamik und den Metabolismus. Auch ein organprotektiver Effekt für Leber, Lunge oder Nieren konnte nicht detektiert werden [32]. Damit kann diese Studie den, in der Vorstudie durch Datzmann et al. [9] in kardiovaskulär vorerkrankten Schweinen, erhobenen positiven Effekt auf die Lungenfunktion nicht bestätigen. Auf Basis dieser Ergebnisse ist eine Therapie mit Natriumthiosulfat im hämorrhagischen Schock zum aktuellen Forschungsstand nicht zielführend. Es benötigt zukünftig weitere Versuche mit Schwefelwasserstoff und seiner Donoren in verschiedenen Applikationsformen sowie mit erhöhter Fallzahl, um einen möglichen therapeutischen Benefit zu untersuchen und eine Therapieoption im hämorrhagischen Schock zu bieten.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die Hämorrhagie ist und bleibt einer der gefürchteten Todesursachen bei Traumapatienten/-innen mit besonderer Schwere in der militärischen Population. Abgelegene Orte mit eingeschränktem Zugang zur medizinischen Versorgung stellen eine große Herausforderung für das medizinische Gesundheitswesen dar.

Natriumthiosulfat ist ein indirekter Donor von endogenem Schwefelwasserstoff. Thema dieser Dissertation war aufgrund dessen die experimentelle Untersuchung der Natriumthiosulfat-Gabe im hämorrhagischen Schock in kardiovaskulär-gesunden Schweinen. Dabei sollte untersucht werden, ob der organprotektive Effekt auf die Lunge, aber auch auf Herz, Leber und Nieren zutrifft. Zudem wurde das Gesamtüberleben sowie Effekte auf die Hämodynamik und den Metabolismus untersucht.

Dafür wurden im Rahmen eines Tierversuchs neun Tiere in der Interventionsgruppe (Natriumthiosulfat-Gabe) und acht Tiere in der Kontrollgruppe (Natriumchlorid-Gabe) in einem 72 Stunden Versuchssetting untersucht. Die im Vorfeld durchgeführte Instrumentierung der Tiere erlaubte Interventionen und Überwachungen nach intensivmedizinischem Standard. Der hämorrhagische Schock wurde herbeigeführt, indem den Tieren 30 Prozent des errechneten Blutvolumens über 30 Minuten entnommen wurden. Es erfolgte die randomisierte und verblindete Zuteilung der Tiere in die zwei Versuchsgruppen. Die Therapie mit der Interventionslösung (Natriumthiosulfat) beziehungsweise der Trägerlösung (Natrium-Chlorid-Lösung) erfolgte zwei Stunden nach Induktion der Hämorrhagie in erhöhter Dosis über zwei Stunden und als Dauerinfusion über weitere 23 Stunden. Die Dosisfindung erfolgte dabei im Voraus über institutseigene Versuche. Nach drei Stunden folgte die Retransfusion des entnommenen Blutvolumens über eine Stunde. Die intensivmedizinische Betreuung und Überwachung erstreckten sich im Gesamten über 72 Stunden. Über den gesamten Versuch wurde zudem leitliniengerecht mit Vasopressoren und Flüssigkeitssubstitution je nach Bedarf der Tiere therapiert. Zum Versuchsende wurde bei den Tieren durch die Infusion von Kaliumchlorid-Lösung intravenös ein Herzstillstand herbeigeführt.

Zu den definierten Zeitpunkten null Stunden, drei Stunden, 24 Stunden, 48 Stunden und 68 Stunden erfolgte die Erhebung umfangreicher Messparameter inklusive Blut- und

Urinuntersuchungen. Ergänzend wurde alle zwei bis vier Stunden Blutgasanalysen erhoben und in einem achtstündlichen Abstand analysiert.

Es konnte durch die Therapie mit dem Schwefelwasserstoff-Donoren Natriumthiosulfat im Vergleich mit einer Kontrollgruppe in kardiovaskulär-gesunden Tieren kein Vorteil auf das Gesamtüberleben feststellt werden. Eine Interimsanalyse führte jedoch vor Erreichen der statistischen Power zu einem Abbruch der Experimente. Eine Überlebensanalyse ist aufgrund dessen bei geringer Fallzahl nicht zulässig. Der zuvor in kardiovaskulär-erkrankten Tieren beschriebene lungenprotektive Effekt durch Natriumthiosulfat konnte in diesen Versuchsergebnissen nicht festgestellt werden. Auch konnte kein positiver und protektiver Effekt auf die Hämodynamik, den Metabolismus, die Herz-, die Leber- oder die Nierenfunktion gezeigt werden. Die zu Beginn aufgestellten Hypothesen konnten nicht bestätigt werden, die Nullhypothesen wurden verworfen. Aus diesem Versuchsmodell lässt sich kein therapeutischer Benefit durch die intravenöse Verabreichung von Natriumthiosulfat in kardiovaskulär-gesunden Schweinen im hämorrhagischen Schock ableiten. Es bedarf zukünftig weiterer Untersuchungen der Therapiemöglichkeiten mit Natriumthiosulfat beziehungsweise Schwefelwasserstoff-Donoren im hämorrhagischen Schock mit einer erhöhten Fallzahl.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. Adams H, Baumann G, Cascorbi I, Ebener C, Emmel, Geiger S, Janssens U, Klima U, Klippe H, Knoefel W, Marx G, Müller-Werdan U, Pape H, Piek J, Prange H, Roesner D, Roth B, Schuerholz T, Standl T, Zerkowski H-R: Empfehlungen zur Diagnostik und Therapie der Schockformen der IAG Schock der DIVI. DIVI, 42: 196–210 (2005)

2. Bebarta VS, Brittain M, Chan A, Garrett N, Yoon D, Burney T, Mukai D, Babin M, Pilz RB, Mahon SB, Brenner M, Boss GR: Sodium Nitrite and Sodium Thiosulfate Are Effective Against Acute Cyanide Poisoning When Administered by Intramuscular Injection. Ann Emerg Med, 69: 718-725.e4 (2017)

3. Blackstone E, Morrison M, Roth MB: H2S induces a suspended animation-like state in mice. Science, 308: 518–519 (2005)

4. Brock PR, Maibach R, Childs M, Rajput K, Roebuck D, Sullivan MJ, Laithier V, Ronghe M, Dall'Igna P, Hiyama E, Brichard B, Skeen J, Mateos ME, Capra M, Rangaswami AA, Ansari M, Rechnitzer C, Veal GJ, Covezzoli A, Brugières L, Perilongo G, Czauderna P, Morland B, Neuwelt EA: Sodium Thiosulfate for Protection from Cisplatin-Induced Hearing Loss. N Engl J Med, 378: 2376–2385 (2018)

5. Brohi K, Cohen MJ, Ganter MT, Matthay MA, Mackersie RC, Pittet J-F: Acute traumatic coagulopathy: initiated by hypoperfusion: modulated through the protein C pathway? Ann Surg, 245: 812–818 (2007)

6. Cannon JW: Hemorrhagic Shock. N Engl J Med, 378: 370–379 (2018)

7. Chai W, Wang Y, Lin J-Y, Sun X-D, Yao L-N, Yang Y-H, Zhao H, Jiang W, Gao C-J, Ding Q: Exogenous hydrogen sulfide protects against traumatic hemorrhagic shock via attenuation of oxidative stress. J Surg Res, 176: 210–219 (2012)

8. Champion HR, Bellamy RF, Roberts CP, Leppaniemi A: A profile of combat injury. J Trauma, 54: 13–19 (2003)

9. Datzmann T, Hoffmann A, McCook O, Merz T, Wachter U, Preuss J, Vettorazzi S, Calzia E, Gröger M, Kohn F, Schmid A, Denoix N, Radermacher P, Wepler M: Effects of sodium thiosulfate (Na2S2O3) during resuscitation from hemorrhagic shock in swine with preexisting atherosclerosis. Pharmacol Res, 151: 1–8 (2020)

10. Datzmann T, Wepler M, Wachter U, Vogt JA, McCook O, Merz T, Calzia E, Gröger M, Hartmann C, Asfar P, Radermacher P, Nussbaum BL: Cardiac Effects of Hyperoxia During Resuscitation From Hemorrhagic Shock in Swine. Shock, 52: e52-e59 (2019)

11. Drabek T, Kochanek PM, Stezoski J, Wu X, Bayir H, Morhard RC, Stezoski SW, Tisherman SA: Intravenous hydrogen sulfide does not induce hypothermia or improve survival from hemorrhagic shock in pigs. Shock, 35: 67–73 (2011)

12. D'Souza EW, MacGregor AJ, Dougherty AL, Olson AS, Champion HR, Galarneau MR: Combat injury profiles among U.S. military personnel who survived serious wounds in Iraq and Afghanistan: A latent class analysis. PLoS ONE, 17: 1-12 (2022)

13. Eddy VA, Morris JA, Cullinane DC: Hypothermia, Coagulopathy, and Acidosis. Surg Clin North Am, 80: 845–854 (2000)

14. Floccard B, Rugeri L, Faure A, Saint Denis M, Boyle EM, Peguet O, Levrat A, Guillaume C, Marcotte G, Vulliez A, Hautin E, David JS, Négrier C, Allaouchiche B: Early coagulopathy in trauma patients: An on-scene and hospital admission study. Injury, 43: 26–32 (2012)

15. Francis RC, Vaporidi K, Bloch KD, Ichinose F, Zapol WM: Protective and Detrimental Effects of Sodium Sulfide and Hydrogen Sulfide in Murine Ventilator-induced Lung Injury. Anesthesiology, 115: 1012–1021 (2011)

16. Gao C, Xu D-Q, Gao C-J, Ding Q, Yao L-N, Li Z-C, Chai W: An exogenous hydrogen sulphide donor, NaHS, inhibits the nuclear factor κB inhibitor kinase/nuclear factor κb inhibitor/nuclear factor-κB signaling pathway and exerts cardioprotective effects in a rat hemorrhagic shock model. Biol Pharm Bull, 35: 1029–1034 (2012)

17. Hess JR, Brohi K, Dutton RP, Hauser CJ, Holcomb JB, Kluger Y, Mackway-Jones K, Parr MJ, Rizoli SB, Yukioka T, Hoyt DB, Bouillon B: The coagulopathy of trauma: a review of mechanisms. J Trauma, 65: 748–754 (2008)

18. Kage S, Ikeda H, Ikeda N, Tsujita A, Kudo K: Fatal hydrogen sulfide poisoning at a dye works. Leg Med, 6: 182–186 (2004)

19. Kage S, Kashimura S, Ikeda H, Kudo K, Ikeda N: Fatal and nonfatal poisoning by hydrogen sulfide at an industrial waste site. J Forensic Sci, 47: 652–655 (2002)

20. Kamoun P: Endogenous production of hydrogen sulfide in mammals. Amino Acids, 26: 243–254 (2004)

21. Kauvar DS, Wade CE: The epidemiology and modern management of traumatic hemorrhage: US and international perspectives. Crit Care, 9: 1–9 (2005)

22. Kirkebøen KA, Strand OA: The role of nitric oxide in sepsis--an overview. Acta Anaesthesiol Scand, 43: 275–288 (1999)

23. Knöller E, Stenzel T, Broeskamp F, Hornung R, Scheuerle A, McCook O, Wachter U, Vogt JA, Matallo J, Wepler M, Gässler H, Gröger M, Matejovic M, Calzia E, Lampl L, Georgieff M, Möller P, Asfar P, Radermacher P, Hafner S: Effects of Hyperoxia and Mild Therapeutic Hypothermia During Resuscitation From Porcine Hemorrhagic Shock. Crit Care Med, 44: 264 (2016)

24. Kutcher ME, Howard BM, Sperry JL, Hubbard AE, Decker AL, Cuschieri J, Minei JP, Moore EE, Brownstein BH, Maier RV, Cohen MJ: Evolving beyond the vicious triad: Differential mediation of traumatic coagulopathy by injury, shock, and resuscitation. J Trauma Acute

Care Surg, 78: 516–523 (2015)

25. Li L, Bhatia M, Zhu YZ, Zhu YC, Ramnath RD, Wang ZJ, Anuar FBM, Whiteman M, Salto-Tellez M, Moore PK: Hydrogen sulfide is a novel mediator of lipopolysaccharide-induced inflammation in the mouse. FASEB J, 19: 1196–1198 (2005)

26. Li L, Hsu A, Moore PK: Actions and interactions of nitric oxide, carbon monoxide and hydrogen sulphide in the cardiovascular system and in inflammation — a tale of three gases! Pharmacol Ther, 123: 386–400 (2009)

27. Marutani E, Yamada M, Ida T, Tokuda K, Ikeda K, Kai S, Shirozu K, Hayashida K, Kosugi S, Hanaoka K, Kaneki M, Akaike T, Ichinose F: Thiosulfate Mediates Cytoprotective Effects of Hydrogen Sulfide Against Neuronal Ischemia. J Am Heart Assoc, 4: 1–10 (2015)

28. McCook O, Radermacher P, Volani C, Asfar P, Ignatius A, Kemmler J, Möller P, Szabó C, Whiteman M, Wood ME, Wang R, Georgieff M, Wachter U: H2S during circulatory shock: some unresolved questions. Nitric Oxide, 41: 48–61 (2014)

29. McGeer P: Medical uses of Sodium thiosulfate. J Neurol Neuromedicine, 1: 28–30 (2016)

30. Merz T, McCook O, Brucker C, Waller C, Calzia E, Radermacher P, Datzmann T: H2S in Critical Illness-A New Horizon for Sodium Thiosulfate? Biomolecules, 12: 543 (2022)

31. Merz T, Stenzel T, Nußbaum B, Wepler M, Szabo C, Wang R, Radermacher P, McCook O: Cardiovascular disease and resuscitated septic shock lead to the downregulation of the H2S-producing enzyme cystathionine-γ-lyase in the porcine coronary artery. Intensive Care Med Exp, 5: 1–12 (2017)

32. Messerer DAC, Gaessler H, Hoffmann A, Gröger M, Benz K, Huhn A, Hezel F, Calzia E, Radermacher P, Datzmann T: The H2S Donor Sodium Thiosulfate (Na2S2O3) Does Not Improve Inflammation and Organ Damage After Hemorrhagic Shock in Cardiovascular Healthy Swine. Frontiers in immunology, 13: 901005 (2022)

33. Mok Y-YP, Atan, Mohammed Shirhan Bin Mohammed, Yoke Ping C, Zhong Jing W, Bhatia M, Moochhala S, Moore PK: Role of hydrogen sulphide in haemorrhagic shock in the rat: protective effect of inhibitors of hydrogen sulphide biosynthesis. Br J Pharmacol, 143: 881–889 (2004)

34. Mok, Y. -Y P., Moore PK: Hydrogen sulphide is pro-inflammatory in haemorrhagic shock. Inflamm Res, 57: 512–518 (2008)

35. Moore EE: Thomas G. Orr Memorial Lecture. Staged laparotomy for the hypothermia, acidosis, and coagulopathy syndrome. Am J Surg, 172: 405–410 (1996)

36. Morrison ML, Blackwood JE, Lockett SL, Iwata A, Winn RK, Roth MB: Surviving blood loss using hydrogen sulfide. J Trauma, 65: 183–188 (2008)

37. Mutschler M, Paffrath T, Wölfl C, Probst C, Nienaber U, Schipper IB, Bouillon B, Maegele M: The ATLS(®) classification of hypovolaemic shock: a well established teaching tool on the edge? Injury, 45: 35-38 (2014)

38. Nichols TC, Bellinger DA, Merricks EP, Raymer RA, Kloos MT, Defriess N, Ragni MV, Griggs TR: Porcine and canine von Willebrand factor and von Willebrand disease: hemostasis, thrombosis, and atherosclerosis studies. Thrombosis, 2010: 1–11 (2010)

39. Nussbaum BL, Stenzel T, Merz T, Scheuerle A, McCook O, Wachter U, Vogt JA, Matallo J, Gässler H, Gröger M, Matejovic M, Calzia E, Lampl L, Georgieff M, Möller P, Asfar P, Radermacher P, Hafner S: Hyperoxia or Therapeutic Hypothermia During Resuscitation from Non-Lethal Hemorrhagic Shock in Swine. Shock, 48: 564–570 (2017)

40. Pape H-C, Grotz M, Schwermann T, Ruchholtz S, Lefering R, Rieger M, Tröger M, Graf von der Schulenburg, J. M., Krettek C: Entwicklung eines Modells zur Berechnung der Kosten der Versorgung schwer Verletzter - eine Initiative des Traumaregisters der DGU. Unfallchirurg, 106: 348–357 (2003)

41. Pasala S, Carmody JB: How to use… serum creatinine, cystatin C and GFR. Arch Dis Child: Educ Pract Ed (Archives of Disease in Childhood. Education and Practice), 102: 37–43 (2017)

42. Ravindran S, Kurian GA: Effect of Sodium Thiosulfate Postconditioning on Ischemia-Reperfusion Injury Induced Mitochondrial Dysfunction in Rat Heart. J Cardiovasc Transl Res, 11: 246–258 (2018)

43. Sakaguchi M, Marutani E, Shin H, Chen W, Hanaoka K, Xian M, Ichinose F: Sodium thiosulfate attenuates acute lung injury in mice. Anesthesiology, 121: 1248–1257 (2014)

44. Salmhofer H, Franzen M, Hitzl W, Koller J, Kreymann B, Fend F, Hauser-Kronberger C, Heemann U, Berr F, Schmaderer C: Multi-modal treatment of calciphylaxis with sodium-thiosulfate, cinacalcet and sevelamer including long-term data. Kidney Blood Press Res, 37: 346–359 (2013)

45. Satterly SA, Salgar S, Hoffer Z, Hempel J, DeHart MJ, Wingerd M, Raywin H, Stallings JD, Martin M: Hydrogen sulfide improves resuscitation via non-hibernatory mechanisms in a porcine shock model. J Surg Res, 199: 197–210 (2015)

46. Schlag G, Redl H: Mediators of injury and inflammation. World J Surg, 20: 406–410 (1996)

47. Shirozu K, Tokuda K, Marutani E, Lefer D, Wang R, Ichinose F: Cystathionine γ-lyase deficiency protects mice from galactosamine/lipopolysaccharide-induced acute liver failure. Antioxid Redox Signal, 20: 204–216 (2014)

48. Shults C, Sailhamer EA, Li Y, Liu B, Tabbara M, Butt MU, Shuja F, Demoya M, Velmahos G, Alam HB: Surviving blood loss without fluid resuscitation. J Trauma, 64: 629–640 (2008)

49. Simon F, Giudici R, Duy CN, Schelzig H, Oter S, Gröger M, Wachter U, Vogt J, Speit G, Szabó C, Radermacher P, Calzia E: Hemodynamic and metabolic effects of hydrogen sulfide during

porcine ischemia/reperfusion injury. Shock, 30: 359–364 (2008)

50. Sobrino J, Shafi S: Timing and causes of death after injuries. Bayl Univ Med Cent Proc, 26: 120–123 (2013)

51. Szabo C, Papapetropoulos A: International Union of Basic and Clinical Pharmacology. CII: Pharmacological Modulation of H2S Levels: H2S Donors and H2S Biosynthesis Inhibitors. Pharmacol Rev, 69: 497–564 (2017)

52. Velik-Salchner C, Schnürer C, Fries D, Müssigang PR, Moser PL, Streif W, Kolbitsch C, Lorenz IH: Normal values for thrombelastography (ROTEM) and selected coagulation parameters in porcine blood. Thromb Res, 117: 597–602 (2006)

53. Wang R: Physiological implications of hydrogen sulfide: a whiff exploration that blossomed. Physiol Rev, 92: 791–896 (2012)

54. Wepler M, Merz T, Wachter U, Vogt J, Calzia E, Scheuerle A, Möller P, Gröger M, Kress S, Fink M, Lukaschewski B, Rumm G, Stahl B, Georgieff M, Huber-Lang M, Torregrossa R, Whiteman M, McCook O, Radermacher P, Hartmann C: The Mitochondria-Targeted H2S-Donor AP39 in a Murine Model of Combined Hemorrhagic Shock and Blunt Chest Trauma. Shock, 52: 230–239 (2019)

55. Whiteman M, Li L, Rose P, Tan C-H, Parkinson DB, Moore PK: The effect of hydrogen sulfide donors on lipopolysaccharide-induced formation of inflammatory mediators in macrophages. Antioxid Redox Signal, 12: 1147–1154 (2010)

56. Wu S, Lyu G, Lou R: Applications of Chromatography Hyphenated Techniques in the Field of Lignin Pyrolysis. InTech, 3: 41–64 (2012)

57. Yao YM, Zhang H: Better therapy for combat injury. Mil Med Res, 6: 120–123 (2019)

58. Zhang MY, Dugbartey GJ, Juriasingani S, Sener A: Hydrogen Sulfide Metabolite, Sodium Thiosulfate: Clinical Applications and Underlying Molecular Mechanisms. Int J Mol Sci, 22: 1–13 (2021)

7. ANHANG

III. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Schematische Darstellung der „Schockspirale“……..……4

Abbildung 2: Schematische Darstellung der einliegenden Instrumentierungen……..22

Abbildung 3: Schematischer Versuchsablauf…….……24

Abbildung 4: Zeitlicher Ablauf der Messungen…….……27

Abbildung 5: Ablauf der extrahierenden Alkylierungsreaktion…….……..33

Abbildung 6: Aufbau eines Box-Whisker-Plots……..34

Abbildung 7: Grafische Darstellung des entnommenen Blutvolumens……37

Abbildung 8: Grafische Darstellung der Körpertemperatur……..38

Abbildung 9: Grafische Darstellung der Sulfid-Konzentration……..39

Abbildung 10: Grafische Darstellung des Herzzeitvolumens……..40

Abbildung 11: Grafische Darstellung der Herzfrequenz……..41

Abbildung 12: Grafische Darstellung des Schlagvolumens und der Schlagvolumenvariation ……..42

Abbildung 13: Grafische Darstellung des mittleren arteriellen Blutdrucks……43

Abbildung 14: Grafische Darstellung des zentralvenösen Drucks.……..44

Abbildung 15: Grafische Darstellung des Noradrenalin-Bedarfs……..45

Abbildung 16: Grafische Darstellung der Beatmungsparameter……46

Abbildung 17: Grafische Darstellung des Horovitz-Quotienten.……47

Abbildung 18: Grafische Darstellung des pH-Wert, des Base Excess, der Sauerstoff- und Kohlenstoffdioxidpartialdrücke, des Hämoglobins sowie des Laktats……..48

Abbildung 19: Grafische Darstellung des respiratorischen Quotienten……..50

Abbildung 20: Grafische Darstellung der Parameter der Nierenfunktion ……..52

Abbildung 21: Grafische Darstellung der Parameter der Leberfunktion ……..53

Abbildung 22: Kaplan-Meier Überlebenskurve……..54

IV. **TABELLENVERZEICHNIS**

Tabelle 1: Elektrolyte und Blutglukose ……49

Tabelle 2: Parameter des Blutbildes……51

V. **DANKSAGUNG**

Die Danksagung wurde aus Gründen des Datenschutzes entfernt.

VI. **LEBENSLAUF**

Der Lebenslauf wurde aus Gründen des Datenschutzes entfernt.