Universität Ulm
Institut für Anästhesiologische Pathophysiologie und Verfahrensentwicklung
Leitung: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Peter Radermacher

Effekte einer postinterventionellen Kombination von therapeutischer Hypothermie und Hyperoxie auf Hämodynamik und Organfunktion in einem Langzeitmodell des hämorrhagischen Schocks beim Schwein

Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität Ulm

Vorgelegt von
Rouven Hornung
geboren in Saarbrücken
2016

Amtierender Dekan: Prof. Dr. rer. nat. Thomas Wirth

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

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Markus Huber-Lang

Tag der Promotion: 15.12.2017

I Inhaltsverzeichnis

1 EINLEITUNG 1
1.1 Epidemiologie des hämorrhagischen Schocks 1
1.2 Der hämorrhagische Schock 1
1.3 Pathophysiologie des hämorrhagischen Schocks 2
1.4 Therapie des hämorrhagischen Schocks 4
1.5 Versuchsvorhaben 5
1.6 Kontroverse 8
1.7 Spezielle Fragestellungen 11

2 MATERIAL UND METHODEN 12
2.1 Versuchstiere 12
2.2 Versuchsaufbau 12
2.3 Methoden 19
2.4 Materialien 33

3 ERGEBNISSE 43
3.1 Allgemeine Ergebnisse 43
3.2 Hämodynamik 45
3.3 Blutgasanalyse 48
3.4 Stoffwechsel 50
3.5 Nierenfunktiosnwerte 54
3.6 Immunhistochemie der Niere 57
3.7 Gerinnung 59
3.8 Entzündungsparameter 61

4 DISKUSSION 63
4.1 Das Studienmodell 63
4.2 Auswertung der Studienergebnisse 66
4.3 Kontroverse zum Studienmodell 69
4.4 Schlussfolgerung 70

5 ZUSAMMENFASSUNG 72

6 LITERATURVERZEICHNIS 74

LEBENSLAUF 86

II Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Circulus vitiosus der Pathophysiologie des Schocks 4
Abb. 2: „lethal triade of shock“, letale Trias des Schocks 9
Abb. 3: Instrumentierung 15
Abb. 4: Versuchsablauf 16
Abb. 5: Zeitlicher Verlauf der verschiedenen Messungen 20
Abb. 6: ELISA für Isoprostan-8 26
Abb. 7: Funktionsprinzip Rotem® 27
Abb. 8: Beispielmessung Rotem® 28
Abb. 9: Körperkerntemperatur in ° C 44
Abb. 10: Überleben in beiden Gruppen 45
Abb. 11: Grafische Darstellung des Herzzeitvolumen (HZV) 46
Abb. 12: Grafische Darstellung des arteriellen Base-Excess 52
Abb. 13: Grafische Darstellung des arteriellen Hämoglobins 53
Abb. 14: Grafische Darstellung des Serum-Kreatinin-Werts 56
Abb. 15: Immunhistochemische Auswertung der Expression der Cystathionin-Gamma-Lyase im Nierengewebe 57
Abb. 16: Immunhistochemische Auswertung der Nitrotyrosin-Bildung im Nierengewebe 58

III Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Allgemeine Daten 43
Tab. 2: Parameter der Hämodynamik 47
Tab. 3: Parameter der Blutgasanalysen 49
Tab. 5: Parameter des Stoffwechsels 51
Tab. 4: Parameter der Nierenfunktion 55
Tab. 6: Parameter der Gerinnung 60
Tab. 7: Parameter der Entzündungsreaktion 62

IV Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
ACD	Acidium-citricum-Dextrose
AF	Atemfrequenz
AK	Antikörper
ALT	Alanin-Aminotransferase
AMV	Atemminutenvolumen
ARDS	Acute respiratory distress syndrome
AST	Aspartat-Aminotransferase
AZV	Tidalvolumen
Bds.	beidseits
BGA	Blutgasanalyse
BMW	Bretoncelles-Meishan-Willebrand
CBS	Cystathionin-β-Synthase
CFT	Clot-formation time
Cl	Chlorid
CT	coagulation time
CTH	Cystathionin-Ɣ-Lyase
CVP	Zentralvenöser Druck
DIC	Disseminated intravasal coagulation
DIN	Deutsche Industrie Norm
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent-Assay
EN	Europäische Norm
$etCO_2$	endtidales Kohlendioxid
EVLW	Extravaskuläres Lungenwasser
F	French
FiO_2	Inspiratorischer Sauerstoffpartialdruck
H_2S	Schwefelwasserstoff
HCO_3	Bicarbonat
HES	Hydroxyethylstärke
HF	Herzfrequenz
HZV	Herzzeitvolumen
I:E	Inspiration zu Expiration
ICG	Indocyaningrün
Ig	Imunnglobulin

IL	Interleukin
ITBV	Intrathorakales Blutvolumen
ITN	Intubationsnarkose
K	Kalium
KCl	Kaliumchlorid
LI	Lyseindex
MAP	Mittlerer arterieller Blutdruck
MCF	Maximal-clot-firmness
MI	Maximaler Lyseindex
MZP	Messzeitpunkt
Na	Natrium
NGAL	Neutrophil-gelatinase-associated-lipocalin
$PaCO_2$	Kohlenstoffdioxidpartialdruck im art. Blut
PAK	Pulmonalarterienkatheter
PaO_2	Sauerstoffpartialdruck im art. Blut
PAOP	Pulmonalarterieller Verschlussdruck
PEEP	Positiver endexpiratorischer Druck
Pplat	Plateau-Druck
ROSC	Return of spontaneous circulation
Rotem	Rotationsthrombelastometrie
RR	Blutdruck nach Riva Rocci
SIRS	Systemic-inflammatory-response-syndrom
SSV	Spezifisches Schlagvolumen
TAT	Thrombin-Antithrombin
TIVA	Totale intravenöse Anästhesie
TNF-α	Tumornekrosefaktor-α
TV	Tidalvolumen
V.	Vena
vWF	Von-Willebrand-Faktor

1 EINLEITUNG

1.1 Epidemiologie des hämorrhagischen Schocks

Das deutsche Traumaregister der Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie führt 28805 schwer traumatisierte Patienten allein für das Jahr 2012 auf. Diese Zahlen unterstreichen die Tatsache, dass Traumapatienten mit einer Frühletalität von 4,7% immer noch einen erheblichen Anteil der Todesursachenstatistik der heutigen Zeit ausmachen. 10% dieser Patienten entwickeln bereits am Unfallort einen hämorrhagischen Schock mit einem systolischen Blutdruck unter 90 mmHg. Epidemiologische Studien zeigen, dass der traumatisch-hämorrhagische Schock Haupttodesursache in der Altersgruppe der unter 40-Jährigen ist (Kauvar u. Wade 2005; Angele et al. 2008).

1.2 Der hämorrhagische Schock

Der traumatisch hämorrhagische Schock wird definiert als signifikanter Blutvolumenverlust, ausgelöst durch ein Trauma, das zur Ausbildung eines manifesten Schockgeschehens, inklusive aller pathophysiologischen Folgeerscheinungen, führt. Dazu zählen Hypotension, Tachykardie, Hypoxie, systemische Entzündungsantwort, Abnahme des Herzzeitvolumens und Anreicherung von sauren Metaboliten, sowie radikalen Sauerstoffspezies. Die präklinische Versorgung Polytraumatisierter sollte in Deutschland gemäß der S3-Leitlinie der deutschen Gesellschaft für Orthopädie und Unfallchirurgie erfolgen (Bouillon et al. 2013; Schöneberg et al. 2014). Hierbei sind die drei Grundsäulen die Stabilisierung der Vitalparameter, die präklinische kausale Behandlung lebensbedrohlicher Komplikation, sowie die Erkennung von präklinisch nicht behandelbaren Komplikationen, die meist einer chirurgischen Versorgung bedürfen. Dementsprechend ist eine suffiziente Schockbehandlung wesentlicher Bestandteil jeder präklinischen Versorgung von Schwerverletzten (Kauvar u. Wade 2005; Sambasivan u. Schreiber 2009). Der Schock als solcher ist definiert als Missverhältnis zwischen Sauerstoffangebot und Sauerstoffnachfrage des Organismus, dem in der Therapie nach Möglichkeit entgegengewirkt werden sollte.

1.3 Pathophysiologie des hämorrhagischen Schocks

Die Letalität von Patienten im hämorrhagischen Schock kann man in eine frühe und eine späte Letalität aufteilen. In der frühen Letalität sterben die Patienten am Schock selbst, also an nicht beherrschbaren Blutungen, die ein primär zirkulatorisches Problem verursachen und der Organismus, selbst bei ausreichender Oxygenierung, nicht mehr genug Sauerstoffträger hat, um lebenswichtige Organsysteme suffizient versorgen zu können (Kauvar u. Wade 2005). Der Patient entwickelt also eine Sauerstoffschuld die zur Gewebshypoxie führt mit allen Konsequenzen. Die Patienten, die in der Phase der späten Letalität versterben, erliegen meist einem Systemic-Inflammatory-Response-Syndrom (SIRS), also einer massiven systemischen Inflammationsreaktion aufgrund unzureichender Oxygenierung von Gewebe (Eltzschig u. Carmeliet 2011). Diese addiert sich zu der hypoxiebedingten Ansammlung von sauren Metaboliten und reaktiven Sauerstoffspezies, die aufgrund der anaeroben Glykolyse entstehen. Dabei kommt es zu erhöhtem nitrosativen Stress und einer massiven Ausschüttung von Cyto- und Chemokinen kommen (Baker et al. 2012). Auch die Reperfusion von bereits hypoxischem Gewebe verstärkt diese Entgleisung des Immunsystems, zum Beispiel durch die erneute Einschwemmung von Sauerstoffradikalen und anderen metabolischen Abfallprodukten in den systemischen Kreislauf (Eltzschig u. Eckle 2011; McCord 1985).
Die Kardinalsymptome des SIRS sind:

- Körpertemperatur ≤ 36°C oder ≥ 38°C
- Herzfrequenz ≥ 90/min
- Tachypnoe mit AF ≥ 20/min oder pCO_2 ≤ 32 mmHg
- Leukozytose ≥ 12000/µl oder Leukopenie ≤ 4000/µl oder Linksverschiebung (>10% unreife Leukozytenvorstufen) im Differentialblutbild

Des Weiteren kann es zu einer Disseminierten intravasalen Gerinnung (DIC) bzw. Verbrauchskoagulopathie kommen, die mikrozirkulatorische Probleme im gesamten Kapillarstrombett verursacht und damit zu verschiedenen Organinsuffizienzen führen kann (Gando et al. 2011; Ledgerwood u. Blaisdell 2012). So kommt es meist relativ schnell zur sogenannten „Schockniere“, was bedeutet, dass die Nierenfunktion durch fehlende Perfusion, die systemische Inflammationsreaktion, sowie Mikrozirkulationsstörungen, abnimmt. Die Niere ist meist das erste Organ, das spezifische Ausfallerscheinungen zeigt

und damit wesentlicher Indikator der Ausprägung des Schockgeschehens. In der Lunge kann es im Rahmen dieser pathophysiologischen Reaktion zum Acute-respiratory-distress-Syndrom (ARDS) kommen, bei der Mikrozirkulationsstörungen und Inflammation zu Endothelschäden führen. Das wiederum verursacht eine Verschlechterung des Ventilations-Perfusions-Verhältnisses und eine unspezifische Entzündungsreaktion, sowie einer damit einhergehenden Abnahme der Compliance (Holcroft u. Trunkey 1983; Riede et al. 1981).
Auch die Leber wird durch das verminderte Sauerstoffangebot in ihrer Syntheseleistung beeinträchtigt und kann daher den Verbrauch der Bestandteile der Gerinnungskaskade, nur beschränkt lange kompensieren (Karmaniolou et al. 2013).
Außerdem bildet sich ein „circulus vitiosus“ im Schockgeschehen, der zu einer Eskalation der Organdysfunktionen führt. So führt die Minderperfusion zur Ansammlung saurer Metaboliten, sowie anderer vasoaktiver Substanzen, was in Kombination mit dem SIRS zur Gefäßrelaxation sowohl in der arteriellen, als auch in der venösen Strombahn führt. Dieser nachlassende Gefäßwiderstand führt konsekutiv zu mit erniedrigter Nachlast und ebenfalls verringerter Vorlast. Diese hämodynamischen Reaktionen potenzieren wiederum das Pumpversagen des Herzens, was logischerweise wieder in die Minderperfusion von lebenswichtigen Organen mündet.
Es bildet sich folglich ein Teufelskreislauf, den es zu durchbrechen gilt, da ansonsten die Kombination dieser pathophysiologischen Mechanismen zum Multiorganversagen und damit zum Tod des Patienten führt (Schlag et al. 1991; Yao et al. 1998).

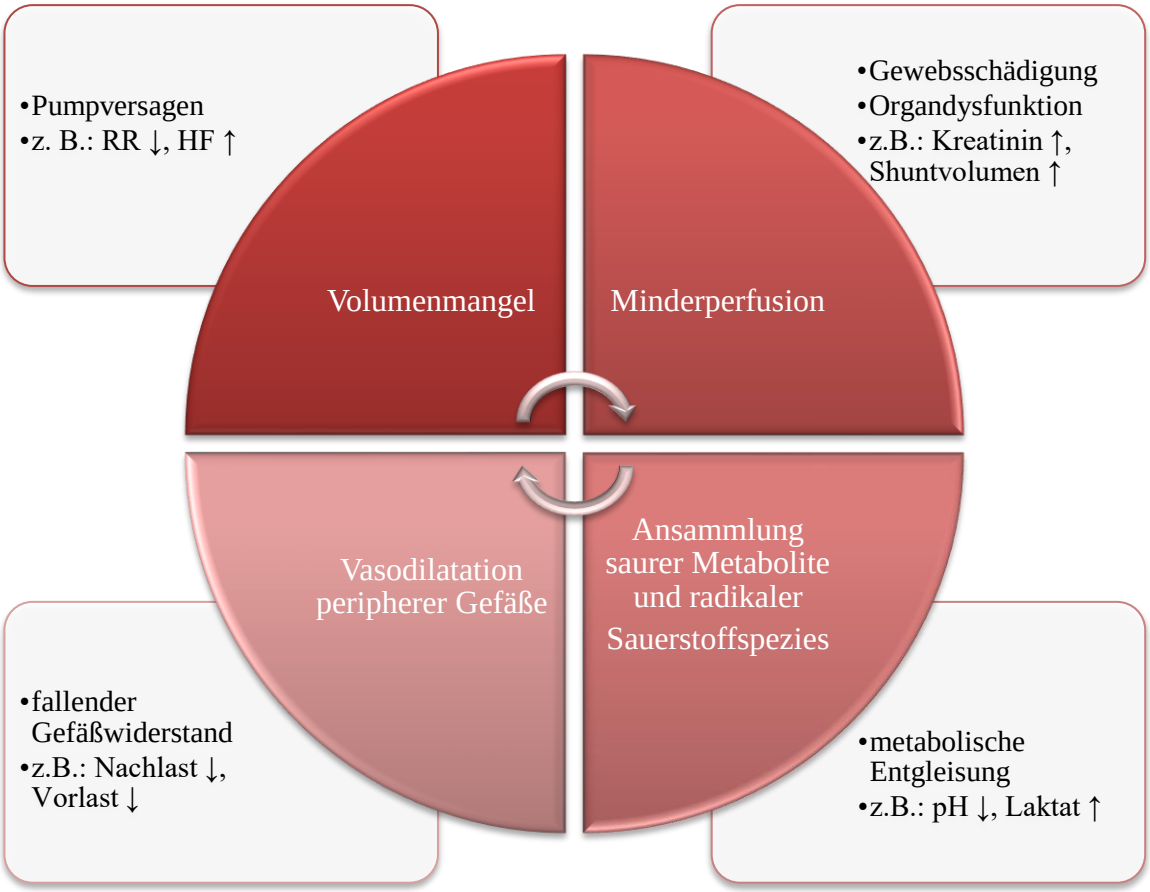


Abb. 1: Circulus vitiosus der Pathophysiologie des Schocks

1.4 Therapie des hämorrhagischen Schocks

Eines der Hauptprobleme ist also die Optimierung des Sauerstoffangebots im Kreislauf des Patienten und der Ausgleich der Sauerstoffschuld. Ziel sollte es deshalb sein, möglichst alle Sauerstoffträger im Blut des Patienten zu oxygenieren (Pehbock et al. 2010). Diese Therapie ist relativ leicht umzusetzen, indem man den Patienten mit hochdosiertem Sauerstoff kontrolliert beatmet, was selbst mit einfachsten Beatmungsgeräten problemlos umsetzbar ist. Die S3-Polytrauma-Leitlinie empfiehlt dazu, eine optimale Oxygenierung, durch frühzeitige Sicherung der Atemwege. Differenziertere Empfehlungen zur spezifischen Beatmungstherapie des Polytraumas gibt es allerdings keine (Schöneberg et al. 2014).
Die andere Säule der Versorgung des Volumenmangelschocks ist die Therapie der hämodynamischen Instabilität. Hierzu gibt es bereits differenzierte Empfehlungen in der entsprechenden S3-Leitline der deutschen Gesellschaft für Orthopädie und Unfallchirurgie und anderer renommierter Forschungsgruppen (David et al. 2013; Bouillon et al. 2013). Es

sollte zunächst eine aggressive Volumentherapie durchgeführt werden, um einen mittleren arteriellen Blutdruck (MAP) > 65 mmHg herzustellen (Magder 2014). Dabei sollte der systolische Blutdruck im Sinne einer permissiven Hypotonie nicht über 90 mmHg gesteigert werden (Kaafarani u. Velmahos 2014). Dazu ist im Falle des schweren hämorrhagischen Schocks präklinisch sowohl auf kristalloide, als auch kolloidale, Volumenersatzmittel zurück zu greifen (Bouillon et al. 2013; Annane et al. 2013). Die aktuelle kritisch geführte Diskussion zur Verwendung von Hydroxyethylstärke (HES) ist ebenfalls mit in diese Studie einbezogen worden; HES darf, als kolloidaler Volumenersatz, weiterhin zur Behandlung des, sonst nicht beherrschbaren, hämorrhagischen Schocks verwendet werden (Perner et al. 2012; Myburgh et al. 2012). Alternativ kann im klinischen Setting auch die Retransfusion mit Blutprodukten angestrebt werden, bei der es allerdings bisher keine Evidenz für ein besseres Outcome der Patienten gibt (Eastridge et al. 2006; Johnson et al. 2010; Malone et al. 2003; Napolitano 2006). Das Problem dieser Studien ist wohl allerdings auch durch das ethische Dilemma bedingt, da hier dementsprechend nur schwer kranke Patienten, in alternativlosen Situationen, behandelt wurden, die, auch ohne ein großzügiges Transfusionsregime, nur sehr geringe Überlebenschancen gehabt hätten.

1.5 Versuchsvorhaben

Gegenstand der vorliegenden Arbeit war es deshalb die Oxygenierung der Organe in der initialen Behandlungsphase nach traumatischer Hämorrhagie zu optimieren und den Zustand einer Sauerstoffschuld in der Dauer und dem Ausmaß möglichst zu reduzieren. Dabei konzentrierte man sich darauf, einerseits das Sauerstoffangebot zu erhöhen und gleichzeitig den Sauerstoffbedarf zu erniedrigen, um die hypoxiebedingten Spätfolgen des hämorrhagischen Schocks zu reduzieren.

Ziel der Studie war es, die Organsysteme des Versuchstieres im Rahmen einer therapeutischen Kühlung in eine Art „Winterschlaf“ oder „Suspended Animation“ zu bringen, um ihren Sauerstoffbedarf so gering wie möglich zu halten und mit der Standardbehandlung der Hämorrhagie zu vergleichen. Mit dieser Zielsetzung gibt es allerdings bisher keinerlei etablierte präklinische Therapie. Zwar wird in vielen Gebieten der Medizin an der therapeutischen Hypothermie geforscht (Hildebrand et al. 2005), allerdings kaum im präklinischen Setting des hämorrhagischen Schocks (Leonov et al. 2002). Diese Maßnahme ist bereits etabliert bei operativen Eingriffen (z. B. Aortenbogenersatz) oder im Falle eines Kreislaufstillstandes mit anschließendem Wiedereinsetzen eines

Spontankreislaufs (Return of spontaneous circulations (ROSC)) (Griepp et al. 1997; Bouzat et al. 2013). Hierdurch können Organschäden, besonders am zentralen Nervensystem, signifikant reduziert werden.

Zwar gibt es weiterhin einige namhafte Projekte zur chemischen oder physikalischen Einleitung einer protektiven „suspended animation“, allerdings zumeist ohne praktisch anwendbare Ergebnisse. So wurden einige Fälle von therapeutischer Hypothermie und ihrer Auswirkungen auf das Überleben (Coyan et al. 2013.; George et al. 2010; Wu et al. 2005), sowie die chemische Einleitung mittels Schwefelwasserstoff untersucht. Es konnten aber keine Standards daraus abgeleitet werden, da die Datenlage durchaus als kontrovers zu bewerten ist (Aslami et al. 2009; Aslami et al. 2010; Blackstone et al. 2005; Nozari et al. 2004; Seitz et al. 2012).

Darüber hinaus ist die Idee, den gesamten Organismus vor der systemischen Inflammationsreaktion, mittels systemischer Kühlung, zu schützen, bisher wenig beachtet worden, da man sich in der Beobachtung meist auf spezifische Organsysteme beschränkt hat. Die Maßgabe der Studie war aber die Gesamtwirkung des Schocks zu erfassen und wenn möglich, durch eine experimentelle Therapie zu reduzieren (Tisherman 2004; Bracht et al. 2012).

Gleichzeitig galt es als Zielsetzung dieser Studie das Sauerstoffangebot zu maximieren und man entschloss sich die therapeutische Hypothermie mit einer therapeutischen Hyperoxie zu kombinieren. Das heißt die Versuchstiere werden kontrolliert mit 100% Sauerstoff beatmet, um die verbliebene Sauerstofftransportkapazität des Blutes vollkommen auszuschöpfen (Wang et al. 2012; Leonov et al. 2002).

Durch die Konzeption der Versuchsanordnung auf 34 Stunden wurde primär ein Teil der späten Letalität des hämorrhagischen Schocks untersucht, da die meisten Patienten die initial überleben, an der oben genannten systemischen Inflammation und dem sekundär auftretenden Multiorganversagen versterben (Kauvar u. Wade 2005, Minei et al 2012).

Da es bisher keine belastbaren Daten zur Tiefe und Dauer einer therapeutischen posttraumatischen Abkühlung des Patienten gibt, entschieden wir uns für eine milde Hypothermie. Dabei sind die negativen Folgen einer Unterkühlung eher limitiert und beherrschbar, außerdem ist deren Einleitung eben auch präklinisch möglich. Die Hypothermiebehandlung sollte bis zum Ende des Versuchs durchgeführt werden, um fokussiert nur die Wirkungen der Hypothermie untersuchen zu können. Gleichzeitig liegen aus der Hypothermiebehandlung von Patienten nach Herzkreislaufstillstand die meisten Daten über einen Zeitraum von 12-24 Stunden vor, weshalb man sich hier anfangs für diese

Therapiedauer entschied. Auf eine Wiedererwärmung mit allen verbunden physiologischen- und pathophysiologischen Konsequenzen wurde deshalb auch zunächst bewusst verzichtet. In der hier vorliegenden Arbeit sollten somit zielgerichtet Grundlagen für zukünftige alternative Konzepte und Therapieempfehlungen erarbeitet werden.

1.6 Kontroverse

Beide Strategien zur Oxygenierung wurden einer kritischen Diskussion unterworfen und die vorhandene Literatur nach Daten zu unseren Therapiemaßnahmen durchsucht.
Aktuell wird eine sehr kritische Diskussion zur hochdosierten Sauerstofftherapie geführt (Bitterman 2009). Es ist schon lange bekannt, dass eine längere Beatmung unter solchen Bedingungen die Bildung von radikalen Sauerstoffspezies erheblich steigert und strukturelle Veränderungen des Lungengewebes verursacht, die eine negative Auswirkung auf das Outcome von kritisch Kranken haben kann (Kallet u. Matthay 2013). Die Hyperoxie kann dahingegen aber auch nachweislich die Apoptoserate in hypoxischem Gewebe reduzieren und gleichzeitig die Durchblutung der Viszeralorgane verbessern, was zu einer signifikanten Reduktion der Translokation von Bakterien ins Peritoneum führt und damit die Rate von septischen Komplikationen verringert (Calzia et al. 2010; Barth et al. 2008).
Diese Auswirkungen konnten wir bereits in Vorgängerexperimenten unserer Arbeitsgruppe gut belegen. Dies gilt allerdings nur für einen kurzen Zeitraum (<24h), da es ausreichend Daten gibt, dass in diesem Zeitraum noch keine relevanten toxischen Wirkungen einer Beatmung mit reinem Sauerstoff zu erwarten sind (Hauser et al. 2009). Wir wählten außerdem einen FiO_2 von 1,0 weil dies in der Realität unter präklinischen Bedingungen, die am einfachsten umzusetzende Oxygenierung ist, die man mit jedem Notfallrespirator erreichen kann.

Auch die therapeutische Hypothermie wird zurzeit oft kontrovers diskutiert. Die Auswirkungen einer solchen Behandlung werden beim Traumapatienten, bislang in hohen Maße als kritisch eingeschätzt, mit speziellem Fokus auf eine beeinträchtigte Gerinnung (Kheirbek et al. 2009; Martini et al. 2005). Aber auch die kältebedingte Beeinträchtigung des körpereigenen Immunsystems könnte konsekutive Folgen für die Bewältigung der systemischen Entzündung haben (Coyan et al. 2013.), wobei es auch hier gegensätzliche Erkenntnisse gibt (Chen et al. 2005; Coyan et al. 2013). Zusammen mit der schockbedingten Azidose, könnte es potenziell zur Verstärkung der „lethal triad“ kommen. Damit meint man im Allgemeinen das Zusammenwirken von Hypothermie, Koagulopathie und Azidose, als Haupttodesursache des schwer traumatisierten Patienten (Thorsen et al. 2011; Fukudome u. Alam 2009; Gonzalez Balverde et al. 2013; Mikhail 1999; Mitra et al. 2012). Interessanterweise wurde die therapeutische Hypothermie bereits in zahlreichen

experimentellen Arbeiten nach Hämorrhagie mit widersprüchlichen Ergebnissen untersucht (Tisherman 2010; Wu et al. 2003; Wu et al. 2005; Beilman et al. 2009).

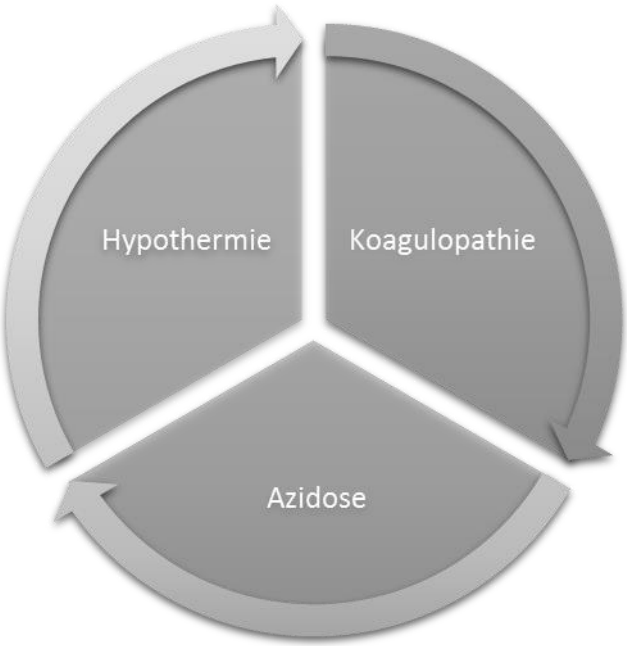


Abb. 2: „lethal triade of shock“, letale Trias des Schocks

Als Zieltemperatur der Hypothermie definierte man hier deshalb eine milde (34°C) therapeutische Hypothermie, die im Sinne der aktuellen Datenlage, zu diesem therapeutischen Prinzip, am geeignetsten erschien: Zum einen, weil sie wiederum praktisch gut durchführbar und schnell zu erreichen ist, beispielsweise mit kalten Infusionslösungen oder externen Kühlaggregaten (Polderman u. Herold 2009). Zum anderen, weil man so eine kältebedingte Beeinträchtigung der Gerinnungskaskade, so gering wie möglich halten konnte (Rohrer u. Natale 1992; Rundgren u. Engstrom 2008; Staikou et al. 2011; Mohr et al. 2013). Auch die physiologischen Nebenwirkungen der Hypothermie lassen sich in diesem Bereich sehr gut kontrollieren (Bandschapp u. Iaizzo 2011; Sessler 2009). Außerdem ist klar, dass es bisher noch relativ wenige Erkenntnisse für den hier gewählten Zeitpunkt direkt nach Trauma und vor chirurgischer Versorgung (samt Retransfusion) gibt. So zeigten Vorgängerexperimente am Institut, dass die gewählte milde Hypothermie, die Gerinnungskaskade nicht verschlechterte, allerdings langfristig mit erhöhten Serumkonzentrationen von proinflammatorischen Zytokinen und einer verstärkten metabolischen Azidose einhergeht (Gröger et al. 2013).

Schließlich gibt es fast gar keine Daten über die Kombination dieser Behandlungen. Die vorliegenden Daten beziehen sich auch nur selten auf Traumapatienten, sondern meistens auf klassisch internistische Notfälle und dort im speziellen fast nur auf solche mit Herzkreislaufstillstand (Janz et al. 2012; Wang et al. 2012). Bei Schwerverletzten werden meist nur postoperative Hypothermiebehandlungen bei schweren Schädel-Hirn-Traumata untersucht (Tisherman 2010; Wu et al. 2005). Tiermodelle gab es bisher lediglich mit Mäusen oder Ratten mit nicht vollkommen eindeutigen Ergebnissen (Kim et al. 1998; Leonov et al. 2002; Takasu et al. 1999; Yang et al. 2004).
Um diese Lücke in der Beobachtung von Patienten nach schwerem Trauma zu schließen, entwickelte man für diese Studie ein Langzeitmodell am Schwein, in dem man diese Kombinationstherapie am Modell eines kontrollierten hämorrhagischen Schocks durchführte und untersuchte. Dabei wurden zahlreiche Parameter wie Hämodynamik, Organfunktion, Inflammationsreaktion, Stoffwechsel und Homöostase, die den Verlauf des Schocks, sowie die Entwicklung der SIRS und der einzelnen Organsysteme im Verlauf verifizieren könnten, erhoben. Unsere Beobachtungen enthalten damit Daten zur systemischen und lokalen Hämodynamik, Nierenfunktion, Auswirkungen auf die Gerinnung, sowie die Entwicklung einer systemischen Inflammation.

1.7 Spezielle Fragestellungen

Bei der Auswertung der Daten lag unser besonderes Augenmerk auf folgenden Fragestellungen:

- Können wir Organschäden an Herz, Leber und Niere mit unserer Therapie erfolgreich reduzieren?
- Können wir die Auswirkungen des oxidativen und nitrosativen Stresses beschränken?
- Wie beeinflussen wir damit die systemische Inflammationsreaktion?
- Wird durch die therapeutische Hypothermie die Gerinnung in diesem Fall kompromittiert?

Ziel der Interventionsstudie war also eine verzögerte systemische Entzündungsreaktion durch eine maximierte Sauerstoffversorgung aller lebenswichtigen Organsysteme, unter gleichzeitiger Senkung des Bedarfs, durch eine kontrollierte Hypothermie. Gleichzeitig wurde bei der Durchführung des Versuchsvorhabens großer Wert daraufgelegt, dass alle Therapiemaßnahmen so nah wie möglich an der präklinischen Realität in Deutschland und gleichzeitig, ohne großen Mehraufwand, umzusetzen sind. Deshalb sind alle in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Prozeduren mit einem Notarzteinsatzfahrzeug, das nach DIN EN 1789 ausgestattet ist, vor Ort umsetzbar. Gleichzeitig sollten eventuelle Nebenwirkungen dieser Therapie erkannt und zeitliche Vorgaben für ein solches Vorgehen erarbeitet werden.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Versuchstiere

Das Versuchsprotokoll wurde sowohl vom Tierschutzbeauftragten der Universität Ulm, als auch vom Regierungspräsidium Tübingen, Baden-Württemberg genehmigt (Tierversuchs-Nr.: 1087). Der Versuch wurde basierend auf den Deutschen und Europäischen Richtlinien zum Umgang mit Labortieren des Bundesinstituts für Gesundheit durchgeführt. Als Versuchstiere (n=18) wurden männliche 12 bis 18 Monaten alte Bretoncelles-Meishan-Willebrand (BMW)-Schweine ausgewählt, die ein Gewicht zwischen 60 und 80 kg hatten. Diese Schweine haben im Gegensatz zu normalen Schweinerassen, die hyperkoagulabel sind, aufgrund eines genetischen Defekts eine verminderte Aktivität des Von-Willebrand-Faktors. Dadurch sind ihre Koagulationseigenschaften denen des Menschen sehr ähnlich (Velik-Salchner et al. 2006; Furlan 1996). Die Wahl fiel auf diese Schweinerasse, weil das Versuchssetting mit multiplen hämodynamischen Messtechniken und zahlreichen Blutentnahmen eine Tierart voraussetzte, die ähnliche und genügend große Blutmengen, sowie zirkulatorisch vergleichbare Eigenschaften besitzt, wie der Mensch. Außer uns haben auch andere Arbeitsgruppen valide Daten zur therapeutischen Hypothermie vor und nach Trauma sammeln können (Alam et al. 2008). Dass das Schwein für diese Versuchsart sehr gut geeignet, bzw. das Referenzmodell für derartige Traumaforschung ist, konnten auch bereits andere Wissenschaftler zeigen (Hauser 2005; Hildebrand et al. 2013). Die Tiere bezog man von Prof. Ludovic Drouet, Service d'Hématologie Biologique, Hôpital Lariboisière, Paris bzw. Prof. Michel Bonneau, Institut National de Recherche Agronomique, Jouy-en-Jonas aus Frankreich.

2.2 Versuchsaufbau

Im Folgenden wird der Versuchsaufbau, der an Vorgängerexperimente, mit ähnlichen Methoden, angelehnt ist (Calzia et al. 2010; Gröger et al. 2013), genauer erläutert. Das gesamte Experiment ist auf einen Zeitraum von 36 Stunden angelegt. Insgesamt haben wir randomisiert 9 Schweine in einer Referenzgruppe, mit Standardtherapie des hämorrhagischen Schocks, und 9 Tiere in der Interventionsgruppe untersucht.

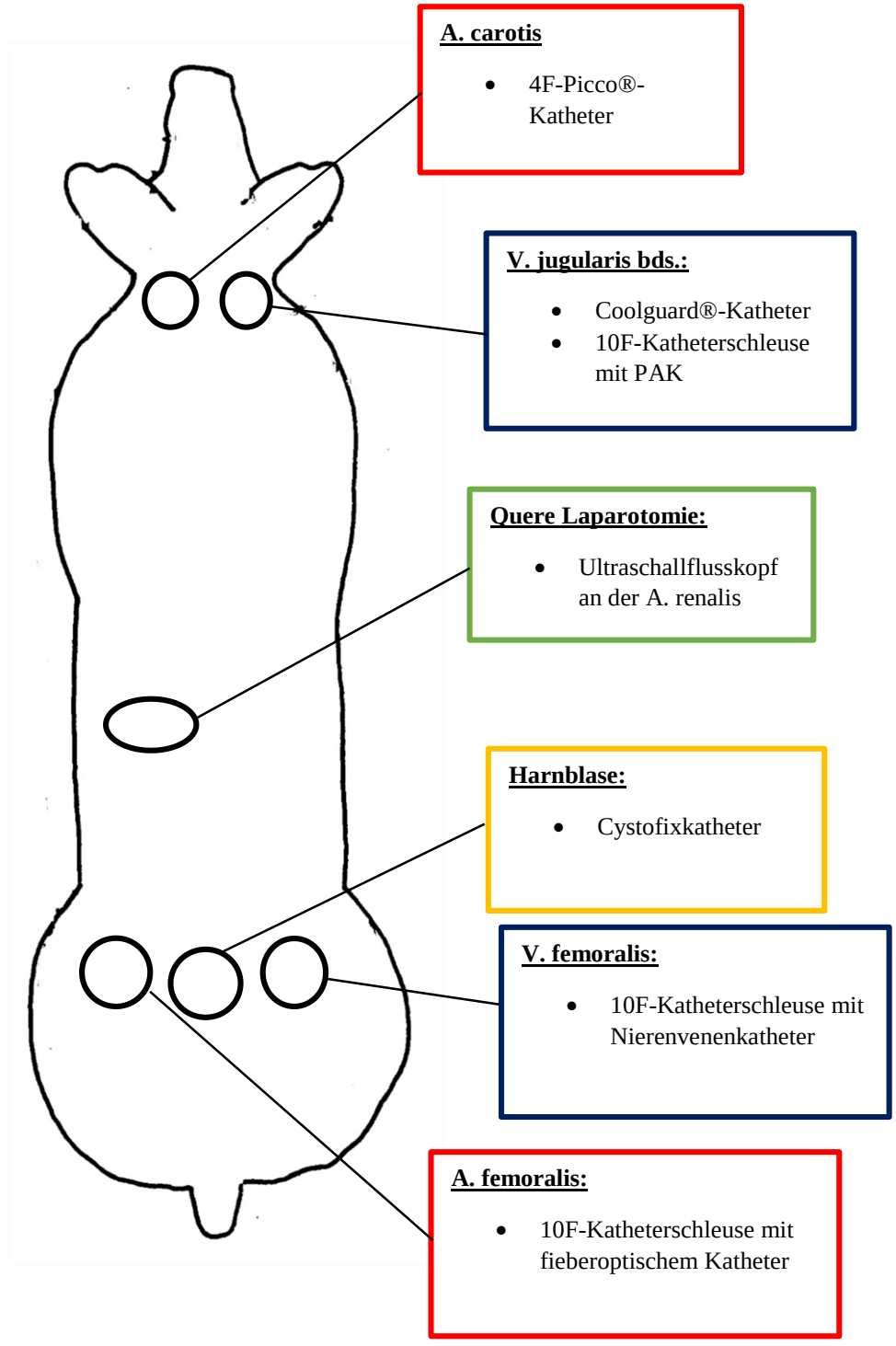
2.2.1 Narkose und Instrumentierung

2.2.1.1 Narkose

Zur Vorbereitung gehört ein Futterentzug der Tiere über 12 Stunden vor Narkoseeinleitung. Bereits vor dem Transport zum Großtier-OP wurden die Tiere mit Azaperon und Midazolam prämediziert wurde. Die total intravenöse Anästhesie (TIVA) (Propofol: 1-2 mg/kgKG, Ketamin: 0,5-1,0 mg/kgKG) wurde anschließend über eine Braunüle an der Ohrvene, nach ausreichender Präoxygenierung eingeleitet. Daraufhin wird das Tier orotracheal intubiert und die Narkose mit 1,5mg Bupremorphin und 8mg Pancuronium vertieft. Ab diesem Zeitpunkt erfolgte eine kontrollierte Beatmung. Die Aufrechterhaltung der Narkose erfolgt mit Pentobarbital (8 mg/kgKG/h) und intermittierend Buprenorphin (20-30 µg/kgKG/h) über Perfusoren. Die TIVA wurde im späteren Verlauf über zentralvenöse Zugänge fortgeführt. In der gesamten Anfangsphase Zeit wurde das Tier mit festgelegten Parametern beatmet, die an regelmäßige Blutgasanalysen angepasst wurden. (Tidalvolumen (TV): 8 ml/kgKG, PEEP: 10 cmH_2O, I:E = 1:1,5, FiO_2 = 0,3, Atemfrequenz (AF): 10-12/min, Zielbereich für $PaCO_2$: 35-45 mmHg, max. Beatmungsdruck: 40 cmH_2O). Diese Vorgehensweise wurde aufgrund der Lungenanatomie der Schweine, des Versuchsaufbaus und Erfahrungen aus den Vorgängerexperimenten gewählt. Vor Beginn der chirurgischen Intervention wurde das Tier dann, entsprechend gängiger operativer Narkoseverfahren, mit Pancuronium (0,1 mg/kgKG/h) relaxiert. Bedarfsorientierte Repetitionsdosen der Relaxans wurden verabreicht, um die Thoraxwandcompliance zu maximieren und damit etwaige Veränderungen der Beatmungsdrück ausschließlich auf pulmonale Veränderungen zurückführen zu können. Im Rahmen der Einleitung wurde eine Dekompression des Magens mittels Magensonde durchgeführt.

2.2.1.2 Instrumentierung

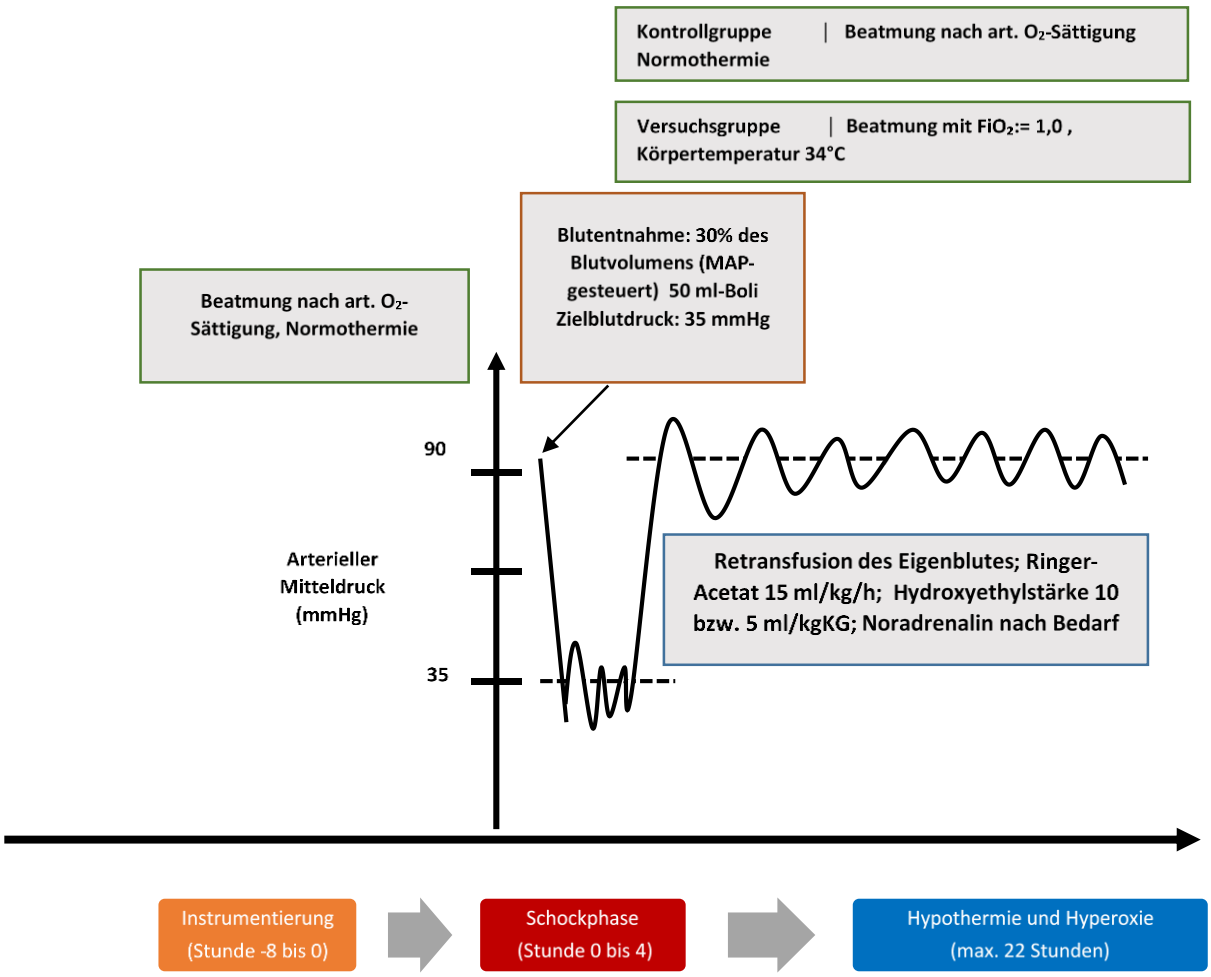
Anschließend wurde die Instrumentierung der Tiere unter sterilen Bedingungen durchgeführt. In die A. carotis links wurde ein 4F-Piccokatheter® eingebracht. Dabei handelt es sich um einen arteriellen Katheter, der sowohl eine invasive Blutdruck-, als auch eine Temperaturmessung bietet. Mit dem Thermosensor lassen sich per Hämodilutionsverfahren auch Messungen zur Hämodynamik durchführen. Als nächstes wurde in die linke V. jugularis eine 8F-Katheterschleuse eingeführt, um darüber einen Swan-Ganz-Katheter (Pulmonalarterienkatheter (PAK)) einzuschwemmen. Die rechte Jugularvene wurde mit einem 10F-Coolguard®-Katheter versorgt, mit dem später die therapeutische Hypothermie eingeleitet werden sollte. Gleichzeitig wurde eine 10F-Katherterschleuse in die Femoralarterie eingebracht, welche für das Einführen eines fiberoptischen Katheters zur Messung der Indocyanin-Grün-Konzentration im Blut, benötigt wird. Zusätzlich schwemmte man über die rechte V. femoralis einen Nierenvenenkatheter ein, um renalvenöse Blutproben entnehmen zu können. Die Harnblase wurde zur Harnableitung chirurgisch freigelegt und mit einem Cystofix-Katheter versorgt. Abschließend wurde eine quere Laparotomie durchgeführt, um einen Ultraschallflusskopf an der rechten Nierenarterie anzubringen. Diese Prozeduren dauerten insgesamt etwa 3-4 Stunden und es schloss sich eine 4-stündige Ruhe- und Erholungsphase an. In der Interventionsphase führten wir die Beatmung pO_2-gesteuert durch, mit einem Zielwert, des im arteriellen Blut physikalisch gelösten Sauerstoffs, von 80-100 mmHg. Außerdem wurden die Versuchstiere in dieser Zeit mit unfraktioniertem Heparin antikoaguliert, um eine Thrombenbildung an den eingeführten Instrumenten zu verhindern.



A. = Arterie, V. = Vene, bds. = beidseits, PAK = Pulmonal-Arterien-Katheter

Abb. 3: Instrumentierung

2.2.2 Versuchsablauf



FiO_2 = Sauerstoffpartialdruck, MAP = mittlerer arterieller Druck, HES = Hydroxyethylstärke, art. = arteriell

Abb. 4: Versuchsablauf

2.2.2.1 Schockphase

Im Anschluss an die Instrumentierungs- und Ruhephase wurde die Schockphase eingeleitet, wobei man zunächst mit Hilfe des Köpergewichts das gesamte Blutvolumen des Tieres abschätzte.
Mit Hilfe dieser Orientierungsgrößen wurden 30% des Blutvolumens entnommen und in Acid-Citrate-Dextrose-Transfusionsbeutel, zwischengelagert. Dabei wurde durch Entnahme und ggf. Retransfusion vom 50 ml Boli ein mittlerer arterieller Blutdruck (MAP) von 35 +- 5mmHg angestrebt. Es liegen bereits Daten aus anderen Tierversuchsmodellen vor, die dieser Durchführung eine sehr gute wissenschaftliche Verarbeitung attestieren (Lomas-Niera et al. 2005).
In dieser hämorrhagischen Phase wurden die Beatmungsparameter im Sinner einer protektiven Beatmung wie folgt verändert, auch um Auswirkungen auf die Hämodynamik möglichst zu minimieren: TV: 8 ml/kgKG, PEEP: 0 cmH_2O, I:E = 1:2, FiO_2 = 0,21.

2.2.2.2 Interventionsphase

Nach 4 Stunden des hämorrhagischen Schocks wurde das Tier, innerhalb einer Stunde, mit Eigenblut wieder kontinuierlich retransfundiert. Zusätzlich gab man 10 ml/kgKG/h oder 5 ml/kgKG/h, bei einem zentralvenösen Druck (CVP) oder einem pulmonalarteriellen verschlussdruck (PAOP) von >18 mmHg, Hydroxyethylstärke und 20 ml/kgKG/h Ringer-Acetat-Infusion. Reichten diese Maßnahmen nicht aus, um den MAP auf das Niveau vor Schockinduktion anzuheben, wurde eine Noradrenalin-Substitution nach Bedarf mittels Perfusor begonnen. Während dieser Vorgang in allen Versuchsgruppen bis hierhin identisch durchgeführt wurde, hat man in der Interventionsgruppe, ab Retransfusion, mit einem FiO_2 von 1,0 beatmet und gleichzeitig eine milde therapeutische Hypothermie (34°C) eingeleitet. Die Hypothermieeinleitung erfolgte gemäß den Empfehlungen möglichst schnell mittels Coolguard®-Katheter und wurde anschließend engmaschig kontrolliert. Diese Intervention wurde bis zum Tod des Versuchstiers, bzw. maximal 22 Stunden fortgeführt. Bei Versuchsende wurde das Tier schließlich mittels Pentobarbital-Überdosierung und KCl-Infusion, gemäß der geltenden Tierschutzgesetze, getötet.

2.2.2.3 Abbruchkriterien

Ein mit Noradrenalin nicht beherrschbares Absinken des mittleren arteriellen Druckes unter 60 mmHg, bei lebensbedrohlichen Tachykardien in der Behandlungsphase, wurde als Abbruchkriterium definiert.

2.3 Methoden

2.3.1 Übersicht Messparameter

Während des gesamten Versuchs wurden kontinuierlich messbare Parameter wie Hämodynamik, indirekte Kalorimetrie, Blutzucker und Blutgase in stündlichen Abständen erfasst. Außerdem wurden an 4 Messzeitpunkten vor und nach der Schockphase, nach 12 Stunden Intervention und am Versuchsende die Hämodynamik, Lungenfunktion und verschiedene Laborparameter abgenommen. Außerdem wurden nach 12, bzw. 34 Stunden Urinproben, aus Sammelurin, über den jeweils vergangenen Zeitraum, entnommen.

Im Bereich der Hämodynamik erfassten wir folgende Parameter:

- Hämodynamik im kleinen und großen Kreislauf
- Zentralvenöser Druck
- Pulmonalarterienverschlussdruck
- Herzzeitvolumen
- Herzfrequenz
- Sauerstoffsättigung
- Intrathorakales Blutvolumen und extravaskuläres Lungenwasser
- Indocyanin-Grün-(ICG)- Eliminationsrate nach Bolusgabe
- Fluss der rechten Nierenarterie

Im Bereich der Atem-Physiologie erhoben wir folgende Daten:

- Lungenmechanik (Compliance, Resistance)
- Blutgase arteriell, renal und gemischtvenös
- indirekte Kalorimetrie

Im Bereich der Laboratoriumsmedizin (renal und venös):

- Isoprostane-8
- Nitrit- und Nitrat-Spiegel
- Chemokine und Zytokine: TNF-α, Interleukin 6, 8 und 10 (mittels Elisa)
- „neutrophil gelatinase-associated lipocalin“ (NGAL), auch im Urin (Soni et al. 2009)
- Laktat

- Serum- Kreatinin und Kreatininkonzentration im Urin zur Berechnung der Clearance
- Alanin-Aminotransferase (ALT)/Aspartat-Aminotransferase (AST) und Bilirubin
- Endogene Glucoseproduktion, direkte aerobe Glucoseoxidationsrate mittels Kalorimetrie und stabile Isotopen-Methode
- Rotationsthrombelastometrie (ROTEM®), sowie Thrombin-Antithrombin-Komplexe, VonWillebrand-Faktor und Plasmin-Aktivator-Inhibitor-1

Immunhistopathologie:

Am Ende eines jeden Versuchs werden außerdem Gewebeschnitte der Niere entnommen und histopathologisch aufbereitet.

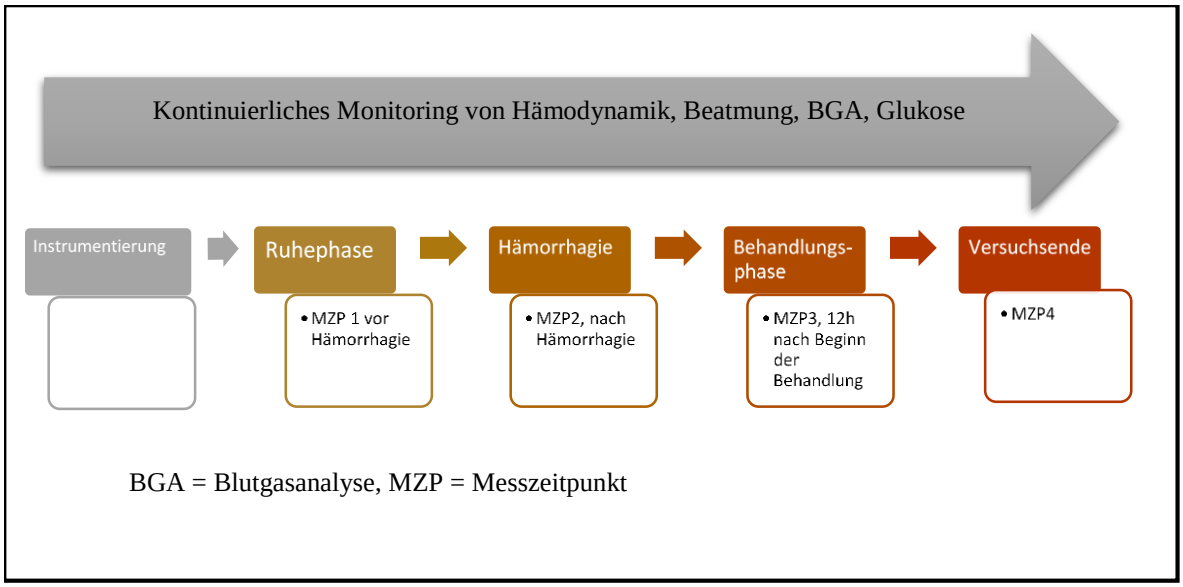


Abb. 5: Zeitlicher Verlauf der verschiedenen Messungen

2.3.2 Hämodynamik:

Im Bereich der Hämodynamik haben wir verschiedene bewährte Methoden verwendet, um zuverlässige Daten zu Veränderungen im großen und kleinen Kreislauf zu erfassen. Im Folgenden beschreibe ich die Funktionen der einzelnen Methoden genauer.

Pulmonalarterien-Katheter:

Mit Hilfe dieses Katheters der über eine 8F-Katheterschleuse in die Jugularvene eingeführt wurde und anschließend regelrecht im Lungenarterienstromgebiet (West-Zone 3) platziert wurde, nahm man das Herzzeitvolumen, den pulmonalarteriellen Blutdruck, sowie den pulmonalerteriellen Verschlussdruck ab. Diese Parameter wurden mittels Wedgeballon, Thermodilution und Druckabnehmer erhoben. Außerdem konnte gemischtvenöses Blut entnommen werden (Swan et al. 1970; Chatterjee 2009).

Picco-Katheter®:

Der Picco-Katheter® in der A. carotis wurde zur Messung arteriellen Blutdrucks, des HZV mittels Thermodilution, sowie zur Abnahme arterieller Blutproben, bzw. arterieller Blutgasanalysen benutzt. Zusätzlich wurde die Schlagvolumen-Variation (SVV) bestimmt.

Ultraschallflussmesser:

Der vorkalibrierte Transonic®-Ultraschallflusskopf wurde zur kontinuierlichen Messung des Blutflußes in der A. renalis benutzt. Die Funktionsweise entspricht der klassischen Dopplermethode in der Sonographie (Wen et al. 1996).

Fiberoptischer Katheter zur Messung der ICG-Konzentration:

Die Messung der ICG-Clearance erfolgt im arteriellen Stromgebiet der A. femoralis nach venöser Gabe eines ICG-Bolus von 25 mg in 5ml Wasser für Injektionszwecke. Diese Methode dient der Messung der Leberfunktion. Da ICG zum größten Teil an Protein gebunden im Blut transportiert wird, geht kaum Farbstoff im Gewebe verloren und mittels eines Infrarotsensors, der im Frequenzbereich um 830 nm misst kann die Verteilung des Indocyaningrün als Fluoreszenzmarker im arteriellen Stromgebiet gemessen. Diese Substanz wird in der Leber abgebaut, weshalb die Halbwertszeit im Blut auch als Indikator für die Leberfunktion genutzt werden kann (Barth et al. 2008).

Doppelindikatormethode zur Messung des ITBV/EVLW mittels Cold®-System:
Zusätzlich wurde mittels des Cold®-Systems der Firma Pulsion (München, Deutschland) eine zweite Methode zur Messung des intrathorakalen Blutvolumens (ITBV) und des extravaskulären Lungenwassers (EVLW) genutzt.

2.3.2.1 Therapeutische Hypothermie

Im Rahmen der Instrumentierung wurde ein 10F-Coolguard®-Katheter eingelegt. Dieser Katheter wurde an einen Wärmetauscher angeschlossen und diente der Einleitung der therapeutischen milden Hypothermie (T=34°C). Gleichzeitig konnte er als zentralvenöser Zugang verwendet werden. Der Nutzen des Coolguard®-Katheters zur therapeutischen Hypothermie ist in zahlreichen Studien belegt und im intensivmedizinischen Alltag oft anzutreffen (Polderman u. Herold 2009; Gröger et al. 2013).

2.3.3 Respiratorische Messungen

2.3.3.1 Beatmungsparameter

Zur maschinellen Beatmung wurde ein Servo^{i}-Ventilator® der Firma Maquet genutzt, der alle gängigen Beatmungsparameter (TV, AF, FiO_2, Spitzendrücke, PEEP, AMV, I:E, endexpiratorischer Flow) messen und kontrollieren kann.

2.3.4 Klinische Chemie

2.3.4.1 Blutgasanalysen

Die Blutgase der Tiere wurden stündlich kontrolliert und lieferten zusätzlich Daten zum Elektrolytstatus, Laktatkonzentration, Hämoglobinkonzetration, Säure-Basen-Status und Blutzucker.

2.3.4.2 Analysen aus Serum (und Urin)

Die Blutproben für die folgenden Messungen wurden jeweils zu den 4 vordefinierten Messzeitpunkten arteriell, renalvenös und pulmonalarteriell gewonnen (vor Hämorrhagie, nach Hämorrhagie, nach 12 Stunden Behandlung und am Versuchsende). Lediglich bei MZP 2 nach der Hämorrhagie wird dem Tier nur arterielles Blut entnommen, da Katheter in der Vena renalis bei einem solchen Volumenmangel oft nicht mehr aspirabel sind.

Folgende Parameter wurden mittels klassischer indirekter Photometrie und spezifischen Kits der Firma Randox bestimmt:

- ALT/AST, als Marker der Lebersyntheseleistung
- Kreatinin im Plasma und im Urin als Marker der Nierenfunktion und zur Berechnung der Kreatinin-Clearance

Dabei wurden spezifische Substrate der zu bestimmenden Enzyme hinzugegeben, die einen Farbumschlag der Probe verursachen. Der Farbumschlag wurde, zu mehreren Zeitpunkten nach der Vermischung, photometrisch erfasst. Anhand der sich verändernden Extinktion, im Bereich vorgegebenen Wellenlängen, konnte, mit Hilfe von Referenzwerten, die Enzymkonzentration berechnet werden.

Außerdem haben wir mittels direkter Photometrie den Bilirubingehalt im Plasma quantifiziert. Dabei wird lediglich der Grad der Extinktion in der für Bilirubin spezifischen Wellenlänge gemessen, was einen Rückschluss auf dessen Konzentration in der Probe zulässt.

2.3.4.3 Enzyme-linked Immunosorbent-Assay (ELISA)

Die ELISA-Analysen wurden durchgehend mit kommerziellen schweinespezifischen ELISA-Kits durchgeführt. Dabei wird ein aufgereinigtes Proteingemisch aus Plasma (bzw. beim Troponin aus Serum) zunächst mit wandständigen Antigen-spezifischen Antiköpern in vorbereiteten Testplatten inkubiert. Dabei wird das Antigen dauerhaft an die Probengefäße gebunden. Anschließend wird überschüssiges Protein abgewaschen und ein zweiter für ein anderes Epitop, desselben Proteins, spezifischer Antiköper dazugegeben, der mit Meerrettich-Peroxidase konjugiert ist. Weil das Antigen jetzt an zwei Seiten mit Antikörpern behaftet ist, nennt man diesen ELISA auch Sandwich-ELISA. Danach müssen wieder überflüssige Reagenzien und Antikörper gründlich abgewaschen werden. Abschließend wird ein kitspezifisches Substrat hinzugegeben und mit Hilfe eines Sunrise®-Photometers der Firma Tecan die Proteinkonzentrationen, bei jeweils spezifischen Absorptionsspektren, gemessen. Zur Messung werden Referenzwerte der Hersteller herangezogen und die Ergebnisse auf Masse/g Protein umgerechnet, um Dilutionen der Serumproben herauszurechnen.

Mit Hilfe von der ELISA-Technik haben wir folgende Parameter bestimmt:

- TNF-α als einen wesentlichen Marker der Immunantwort, der hauptsächlich von aktivierten Makrophagen ausgeschüttet wird. Er wird als Surrogatmarker für das Ausmaß der systemischen Inflammation benutzt (Adib-Conquy u. Cavaillon 2012; Terregino et al. 1997)

- Interleukin-6 (IL-6), das als in Niere und Leber produzierter imunmodulierender Stoff, hauptsächlich zur Ausschüttung von Akute-Phase-Proteinen und der Lymphozytenaktivierung führt. Er kann ebenfalls als Marker der systemischen Inflammation betrachtet werden kann (Aggarwal et al. 2003; Mokart et al. 2005).

- Interleukin-8 (IL-8), das hauptsächlich von Endothelzellen, Monozyten, Fibroblasten und Epithelzellen produziert, um neutrophile Granulozyten anzulocken und diese zur Bildung von radikalen Sauerstoffspezies bringt. Dies ist gleichzeitig ein Marker für die Inflammation und den nitrosativen Stress des Organismus (Adib-Conquy u.

Cavaillon 2012; Herzum u. Renz 2008; Parlato u. Cavaillon 2015; Terregino et al. 1997)

- Interleukin-10 (IL-10), das als Chemokin einen hemmenden Einfluss auf die Immunantwort hat und zum Beispiel die Produktion von TNF-α blockieren kann. Dieser Wert dient zur Abschätzung der Auswirkung der Intervention auf die systemische Inflammationsantwort (Adib-Conquy u. Cavaillon 2012)

- NGAL ist ein Protein, das besonders stark im Epithel des aufsteigenden Schenkels der Henleschleife und der Sammelrohre exprimiert wird. Es dient als Marker der ischämischen Nierenschädigung (Clerico et al. 2012; Gagneux-Brunon et al. 2012).

- Troponin-I ist die inhibitorische Untereinheit des kardialen Tropnonins und wird als Indikator für die myokardiale Schädigung benutzt (Babuin u. Jaffe 2005; O'Brien 2008)

- Isoprostane-8 ist ein Marker für die oxidative Degradation von Lipiden der Zellmembran und des Zellplasmas. Es kann sowohl im Plasma, als auch im Urin gemessen werden und gibt Auskünfte über den Schweregrad des oxidativen Stresses im Organismus (Hauser et al. 2009; Wu et al. 2003)

Beim ELISA der Isoprostane haben wir dahingegen sog. „8-Isoprostane EIA Kit's" der Firma Cayman Chemical verwendet. Hierbei wird unsere Probe zunächst mit einem 8-Isoprostane-acetylcholin-Tracer vermengt. Dieser Tracer bindet, kompetitiv zum vorhandenen 8-Isprostane, an einen ebenfalls hinzugegebenen Anti-Kaninchen-IgG-Maus-Antikörper. Da die hinzugegebene Menge an Tracer immer dieselbe ist verhält sich die Menge an AK-gebundenem 8-Isoprostane umgekehrt proportional zum gebunden 8-Isoprostane-Acetylcholin. Dessen Konzentration messen wir wiederum, nach erfolgter Ausspülung überzähliger Reagenzien, durch Hinzugabe von Ellmanns' Reagenz, welches als Substrat für die 8-Isoprostane-Acetylcholin dient und dessen gelber Farbumschlag, spektralphotometrisch im Frequenzbereich um 412 nm, quantitativ bestimmt werden kann.

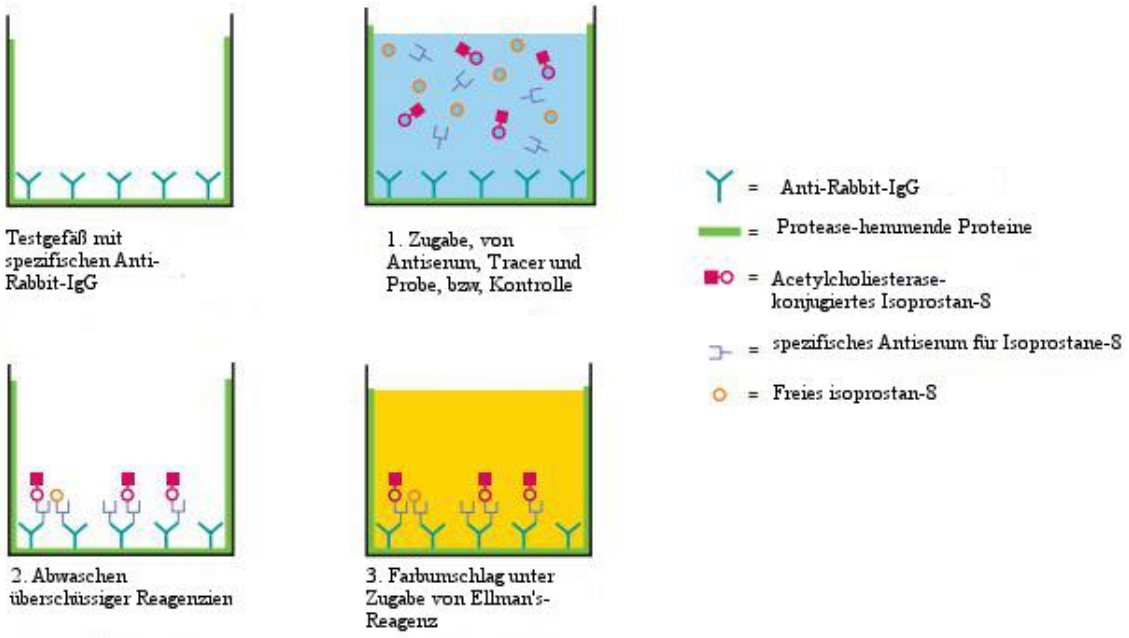


Abb. 6: ELISA für Isoprostan-8 (Abdruck mit freundlicher Genehmigung der Cayman Chemical Company, Ann Arbor/USA)

2.3.5 Rotationselastometrie (ROTEM®)

Da die Blutgerinnung elementarer Bestandteil unserer Beobachtungen war, haben wir in diesem Bereich eine sehr differenzierte Analytik vorgenommen. Hierbei haben wir labortechnisch die Konzentration von Thrombin-Antithrombin-Komplexen, des von-Willebrand-Faktors und des Plasmin-Aktivator-Inhibitors-1 gemessen. Außerdem wurde eine Thrombelastografie mittels Rotem® durchgeführt. Beim Rotem®-System handelt es sich um eine Analytikmethode der Firma Tem Innovations GmbH. Dabei werden einzelne Proben von Citratblut unter Hinzugabe verschiedener Reagenzien auf ihre benötigte Zeit bis zur Gerinnungsaktivierung, bzw. bis zur Ausbildung der maximalen Gerinnselfestigkeit, sowie bis zum Auftreten einer Fibrinolyse hin untersucht. Die Messung findet in einem kleinen feststehenden Gefäß statt, in dem sich ein Kunststoffstempel kontinuierlich dreht und dessen Oszillation sich durch eintretende oder abnehmende Gerinnung ändert.

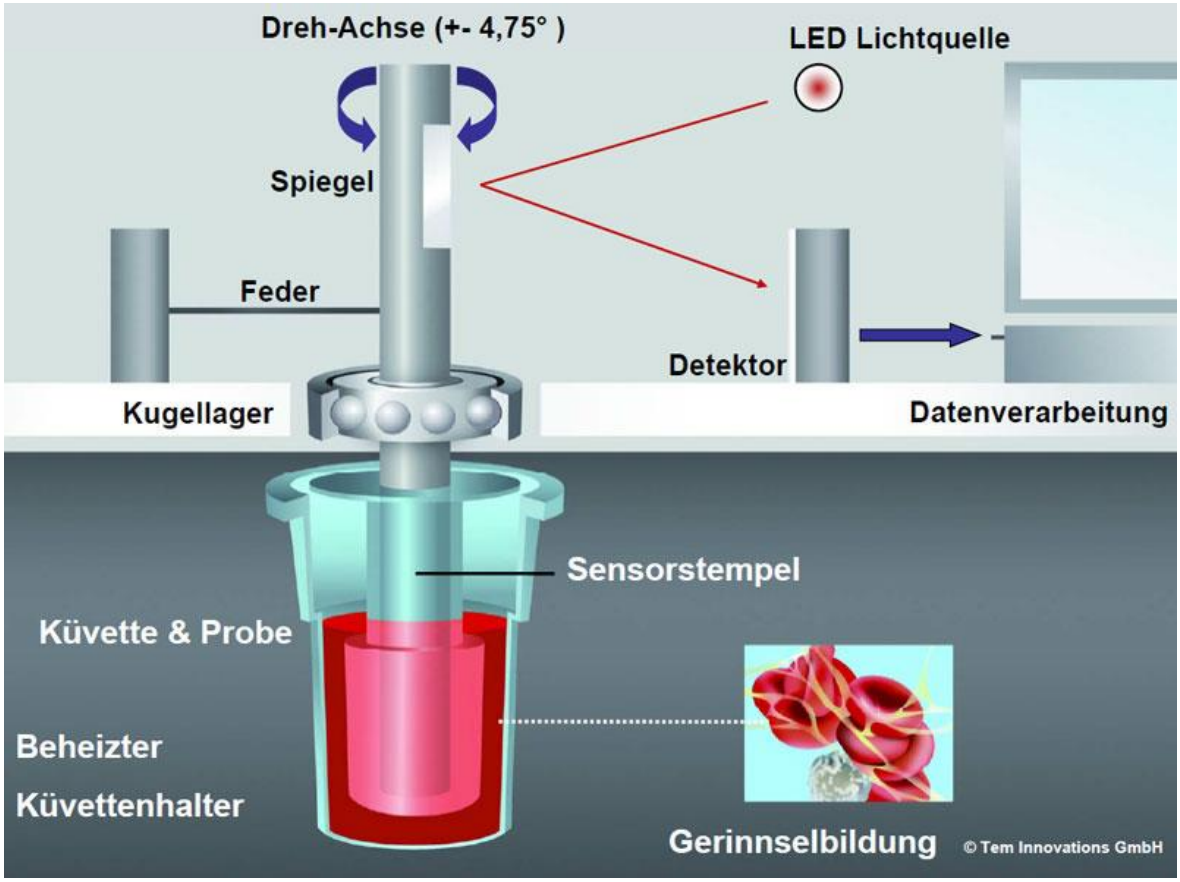


Abb. 7: Funktionsprinzip Rotem® (mit freundlicher Genehmigung von Instrumentation Laboratory, Bedford, USA)

Es werden die „Coagulation-Time“ (CT) und die Zeit von Zugabe der Reagenzien bis Beginn der Gerinnselbildung, die „clot-formation time“ (CFT, Zeit von einer Amplitude der Gerinnung von 2 mm bis zum Anstieg auf 20 mm). Ein anderer wichtiger Parameter dieser Point-of-Care Messung ist die „maximal-clot-firmness“ (MCF, Punkt mit der höchsten Amplitude in der Festigkeitsmessung des Clotts). Außerdem wird der Grad der Thrombolyse, 30 Minuten nach Gerinnselbildung (Lyseindex 30 (LI30)) und dessen Maximum (Maximaler Lyseindex (ML in %)), erfasst.

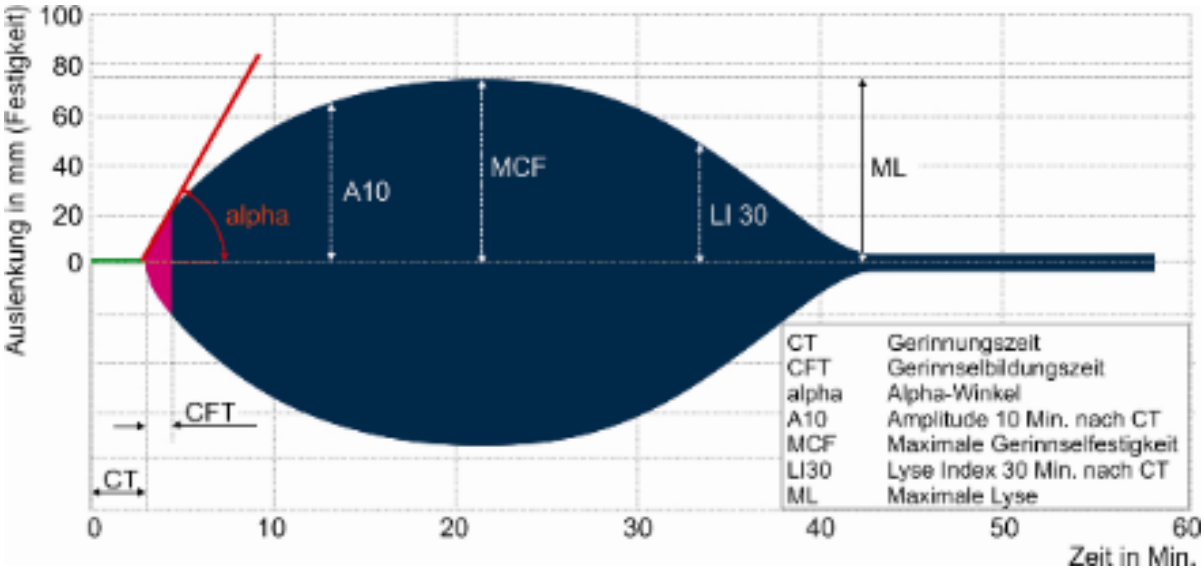


Abb. 8: Beispielmessung Rotem® (mit freundlicher Genehmigung von Instrumentation Laboratory, Bedford, USA)

Den extrinsischen Weg testen wir dabei durch Zugabe von Tissue-Faktor (Extem) zur Citrat-Blutprobe. Außerdem kann man, durch Beimengung von Heparinase, die Auswirkungen von verabreichten Antikoagulantien beim Versuchstier, im Vergleich zur Intem-Messung des selbigen, differenzieren (Heptem). Als vierten Parameter haben wir das Fibtem erfasst, bei der fokussiert nur der Beitrag des Fibrinogens zur Gerinnselfestigkeit (durch Inaktivierung der Thrombozyten) untersucht wird. Als viertes versuchte man mittels APTEM herauszufinden, ob bei den Versuchstieren eine Hyperfibrinolyse vorliegt. Diese Untersuchung ist eine modifizierte Version der EXTEM-Messung. Hierbei wird außer Tissue-Factor auch noch Aprotenin hinzugegeben, was eine Therapie der Hyperfibrinolyse simuliert. Zeigt sich jetzt ein signifikanter Unterschied im Lyseindex nach 30 Minuten (LI 30) oder im maximalen Lyseindex (ML) im Vergleich der EXTEM- mit den APTEM-Werten, so kann sicher eine Hyperfibrinolyse in der Probe festgestellt werden. Sind beide Indizes pathologisch kann ein Faktor XIIIa-Mangel vorliegen. Diese Gerinnungsanalytik ist mittlerweile auch ausreichend am Tiermodell des Schweins erprobt (Velik-Salchner et al. 2006; Martini et al. 2008) und ist außerdem eher geeignet zur differenzierten Gerinngsanalytik als bisher gebräuchliche Parameter wie aPTT, PTT und Quick (Martini et al. 2008). Lediglich über die Thrombozytenfunktion kann, aufgrund einer starken Thrombinaktivierung während der Messung, keine verlässliche Aussage getroffen werden.

Deshalb verwenden wir auch lediglich unfraktioniertes Heparin während der Experimente und keinerlei Substanzen die die Thrombozytenaggregation beeinflussen.

2.3.5.1 Andere Gerinnungsparameter

Thrombin-Antithrombin-Komplexe, Von-Willebrand-Faktor und Plasmin-Aktivator-Inhibitor-1 haben wir ebenfalls erfasst, um genauere Informationen über die Entwicklung der gesamten Gerinnungskaskade während des Experiments zu bekommen (Furlan 1996). Aus technischen Gründen wurden diese Untersuchungen bei Herrn Prof., MD, PhD Martin Matejovic, Biomedizinisches Zentrum und Abteilung für Innere Medizin I der Karls-Universität in Prag, Tschechien durchführen lassen.

2.3.6 Immunhistochemische Untersuchungen

Die immunhistochemische Analyse von Gewebeproben am Versuchsende erfolgte ausschließlich aus Gewebeschnitten der Niere. Zunächst wurden Paraffinschnitte hergestellt und anschließend entsprechend für eine Immunhistochemische Färbung aufbereitet. Die Fluoreszenz wurde mit primären Antigen-Antiköper.Komplexen, die mit einem sekundären enzymgebundenen Antikörper inkubiert wurden, ausgelöst und mittels eines Dako REAL™Detection System verarbeitet. Die quantitative Erfassung der Densitometrie erfolgte mittels Zeiss Axio Imager A1® Mikroskop und der zugehörigen Software Axio Vision® der Firma Carl Zeiss.

2.3.6.1 Nitrotyrosin

Nitrotyrosin entsteht als nichtproteinogene Aminosäure bei der Einwirkung von radikalen Sauerstoffspezies auf Tyrosin und lässt sich so als Surrogat-Marker für den oxidativen und nitrosativen Stress des Organismus benutzen (Darwish et al. 2007; Eleuteri et al. 2009; Viappiani u. Schulz 2006).

2.3.6.2 Endogene H_2S-produzierende Enzyme

Ein anderer Fokus lag hier auch auf den Enzymen Cystathionin-β-Synthase (CBS) und Cystathionin-ɣ-Lyase (CTH). Diese Enzyme sind beide am Cystein-Stoffwechsel beteiligt. Während die CBS Homocystein zu Cystathionin transsulfoniert, spaltet die CTH wiederum Schwefelgruppen vom Cystathionin ab und bildet so Cystein. Die genaue Bedeutung für die Entgiftung von Sauerstoffradikalen, bzw. eine zytoprotektive Wirkung ist noch nicht abschließend geklärt.
In zahlreichen vorangegangenen Untersuchungen wurde allerdings mehrfach nachgewiesen, dass es in ischämischem Gewebe nach Reperfusion zu einer verminderten, bzw vermehrten Expression von entsprechenden Enzymen im Nierengewebe kommt, was wiederum proportional mit dem Grad der Gewebsschädigung, im Sinne von Zelluntergängen und Tubulusnekrosen, korreliert. Dabei wird CBS bei Gewebsschädigung durch Hypoxie vermehrt exprimiert und die Expression von CTH hingegen vermindert. Dabei können beide Enzyme, über ein O_2-Sensing, bei einer Unterversorgung mit Sauerstoff, vermehrt vom

Cytosol in die Mitochondrien translozieren, um eine Akkumulation von nicht oxidiertem H_2S zu verhindern (McCook O et al. 2014). Vorgängerexperimente in unserem Institut konnten bereits zeigen, dass eine hyperoxische Behandlung (Sukhotnik et al. 2009) oder eine intravenöse Gabe von Natriumsulfid (Bracht et al. 2012) bei verschiedenen Versuchstieren nach Trauma bzw. Sepsis eine signifikant schnellere Erholung dieses Enzymsystems zur Folge hat. Dabei konnte auch eine relevante Abschwächung des Gewebsschadens anhand der Nekrose- und Apoptoserate nachgewiesen werden (Wagner et al. 2011). Alle Untersuchungen bezogen sich hierbei explizit auf Nierengewebe, in dem diese Enzymsysteme konstitutiv exprimiert werden, während es in anderen Gewebetypen, wie zum Beispiel der Lunge, zu anderen Expressionsmustern dieser Proteine kommt.
Aus diesem Grund wurde dieser Parameter immunhistochemisch untersucht und als Indikator für eine zytoprotektive Wirkung herangezogen.

2.3.7 Anzahl der Versuchstiere

Insgesamt haben wir 9 Versuche mit unserer Kombinationsbehandlung abgeschlossen und 9 Versuchstiere in einer Referenzgruppe mit klassischer Vorgehensweise behandelt (pO_2-gesteuerte Beatmung, Normothermie). Da unserer Ergebnisse bereits zu diesem Zeitpunkt statistisch signifikant waren, haben wir uns, gemäß den aktuellen Leitlinien zu Tierversuchen, entschieden keine weiteren Versuche durchzuführen.

2.3.8 Statistische Tests

Zur graphischen Darstellung der deskriptiven Statistik haben wir Kaplan-Meier-Überlebenskurven und Boxplots, sowie Tabellen erzeugt. Die Boxplots geben jeweils Median, Minimum, Maximum, 1. und 3. Quartil an. In den Tabellen sind zunächst fettgedruckt der Median und in Klammern dann 1. und 3. Quartil zu finden. Zur statistischen Testung verwendete man zunächst den Kolmogorov-Smirnov-Test, um eine Normalverteilung der Daten auszuschließen. Um signifikante Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten innerhalb der Versuchsgruppen festzustellen wurde der „ANOVA on ranks“-Test verwendet. Anschließend wurden die Daten zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen mit Hilfe des Man-Whitney-Test auf Signifikanz getestet. Zudem wurde der „Dunn’s“-Test für multiple Vergleiche benutzt um Fehlberechnungen, aufgrund von Mehrfachtestungen, auszuschließen. Für alle Testungen wurde als Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,05$ festgelegt. Zur Bearbeitung und Darstellung der Daten wurde Microsoft Excel® bzw. GraphPad Prism 6® benutzt.

2.4 Materialien

Der Übersicht halber werden die benötigten Materialien im Folgenden themenbezogen aufgelistet:

Infusions-/Transfusionsmaterialien:

Infusomat-Leitungen	Original Infusomat®-Leitung	B.Braun Melsungen AG, Melsungen; Germany
Perfusor-Leitungen	Original Perfusor®-Leitung	B.Braun Melsungen AG, Melsungen; Germany
Perfusor-Spritzen	Original-Perfusor® Syringe 50ml	B.Braun Melsungen AG, Melsungen; Germany
Dreiwegehahn	Discofix® 3SC	B.Braun Melsungen AG, Melsungen; Germany
Spritzen	Injekt®, 2-20ml	B.Braun Melsungen AG, Melsungen; Germany
Spritzen	BD Plastipak™, 1ml Luer	Becton Dickinson S.A., Madrid, Spain
Spritzen	BD 10ml Syringe, Luer-Lok™Tip	BD, NJ, USA
Infusomaten	Infusomat® fmS	B.Braun Melsungen AG, Melsungen; Germany
ACD Transfusionsbeutel	MacoPharma Blutbeutel CPD, 500ml	MacoPharma, Mouvaux, Frankreich
Transfusionsbesteck	Sangofix®B 9G	B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland

Narkose:

Viggo Ohr	Vasofix Braunüle, 18G	B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Injektomat	Perfusor® secura P	Infusiomat® secura B, B. Braun, Melsungen, Deutschland
ZVK V. jugularis	MAC™ Two-Lumen Central Venous Access Set 9Fr., SI-11142	Arrow International, PA, USA
Midazolam	Midazolam-ratiopharm®	Midazolam-ratiopharm®, Ratiopharm, Ulm, Deutschland
Ketanest	Ketanest®S	Pfizer Pharma GmbH, Berlin, Deutschland
Propofol	Propofol-Lipuro 2%	B. Braun, Melsungen, Deutschland
Pancuronium	Pancuronium duplex-Actavis	Actavis Deutschland GmbH & Co. KG, München, Deutschland
Buprenorphin	Temgesic®	Reckitt Benckiser Healthcare (UK) Ltd., Hull, United Kingdom
Azaperon	Stresnil®	Janssen Animal Health, Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland
Pentobarbital	Narcoren®	Narcoren®, Merial GmbH, Hallbergmoos, Deutschland

Beatmung:

Beatmungsgerät	Servo^{i} Ventilator	Maquet Critical Care AB, Solna, Schweden
Absaugpumpe	Wisa Absaugpumpe	W. Sauer GmbH&CoKG, Wuppertal, Deutschland
Tubus	Trachealtubus 7,5; Lo-Contour^{TM} Magill	Mallinckrodt Medical, Athlone, Ireland
Sauerstoff		MTI Industriegase Ulm, Deutschland

Allgemeines Monitoring:

Pulsoxymeter	Radical-7 Signal Extraction Pulse CO-Oximeter MASIMO SET®	Masimo Corporation, Irvine, USA
Monitoreinheit	Datex-Ohmeda S5 D-LCC15	Planarsystems Inc. Oregon, USA
Magensonde	Duodenalsonde nach Levin	B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Cystofix	Freka®Cyst Standard 8cm- CH10	Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschlandk
Urinbeutel	Sekretbeutel 1500ml	B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Indirekte Kalorimetrie	Quark RMR®-System	Cosmed, Rom, Italien

Herz-/Kreislaufmedikation:

Metoprolol	Lopresor®	Recordati Pharma, Ulm, Deutschland
Amiodaron	Amiodaron-hameln 50 mg/ml	Hameln pharma plus GmbH Hameln, Deutschland
Ringer	Ringerlösung	Fresenius Kabi, Bad Homburg v.d.H., Deutschland
Jono	Jonosteril®	Fresenius Kabi Bad Homburg v.d.H. Deutschland
Hydroxyethylstärke 6%	Vitafusal®6%	Serumwerk, Bernburg
NaCl 0,9%	NaCl 0,9%	NaCl 0,9%, B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Norepinephrin	Arterenol®	Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, Deutschland

Atropin	Atropinsulfat	Atropinsulfat, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Akrinor	Akrinor®	Ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland

Herz-/Kreislauf-Monitoring:

COLD-System	Pulsion COLD Z-021®	Pulsion Medical Systems, München, Deutschland
Flusskopf	Transonic® Flowprobe8SB, 3SB, 4SB	Transonic Systems Inc., New York, USA
Thermodilutionskatheter (PAC) Swan-Ganz (im MAC in V jugularis-> Druckmessung ZVD MPAP PCWP	Thermodilutionskatheter mit AMC Thromboshield, 7.5 F	Baxter Healthecare Corporation, Irvine, CA, USA
V femorales	Super Arrow-Flex®PSI Set 5Fr. CP-07511	Arrow International, PA, USA
A femorales	Super Arrow-Flex® Percutaneous Sheath Introducer Set 10Fr., CL-07011	Arrow International, PA, USA
A femoralis (in der Schleuse)	Pulsiocath, 5F Thermodilutions-Katheter	Pulsion Medical Systems AG, München, Deutschland
A carotis (MAP)	Introducer Kit, 4F	Pulsion Medizintechnik, München, Deutschland
V renalis	High flow Angiographic Catheter 7F, 100cm	Cordis Corporation, Miami, Florida, USA
A carotis schleuse für introducer kid	RIC® Rapid Infusion Catheter Exchange Set 8,5 Fr., RC-09850	Arrow International, PA, USA

Picco-Katheter	PICCO® Plus	Pulsion Medical Systems, München, Deutschland
Flowmeter-Monitoringeinheit	Datex-Ohmeda S5 D-LCC15	Planarsystems Inc., Oregon, USA
Ultraschallflussmesseinheit	Small Animal blood flowmeter T206	Transonic Systems Inc., NY; USA

Cooling-Devices:

Coolgard	ICY® Intravascular Heat Exchange Catheter Kit (3lumens) 9,3Fr., IC-3893AE	Zoll Circulation, Sunnyvale, CA, USA
Umlaufkühler	Julabo FC 600S	Julabo Labortechnik GmbH, Seelbach, Deutschland

Sonstige Medikamente:

Heparin 10 000 I.E./ml	Heparin-Natrium Braun „Multi“	B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Indocyaningrün	ICG-PULSION-Pulver®	Pulsion Medical Systems SE, Feldkirchen; Deutschland
Glucose	Glucose 40%	B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
KCl 7,46%	1 M-Kaliumchlorid-Lösung Fresenius	Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg v.d.H., Deutschland
Aqua	Aqua ad injectabilia Braun	B. Braun Melsungen Ag, Melsungen, Deutschland

Labor:

SARSTEDT Monovette®	Li-Heparin 9ml	SARSTEDT Aktiengesellschaft & Co., Nümbrecht, Deutschland
	Li-Heparin 2,7ml Coagulation 5ml Serum Z 2,7ml ThromboExact 2,7ml EDTA K 2,7 ml	
Pipetten	Eppendorf Reference®, 0,5-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Pipettenspitzen	Eppendorf Pipettenspitzen	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
	Multi-Adapter lang	SARSTEDT Aktiengesellschaft & Co., Nümbrecht, Deutschland
	Zentrifugen-Röhrchen, 14ml	SARSTEDT Aktiengesellschaft & Co., Nümbrecht, Deutschland
	Perchloressigsäure 0,6M	AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland
	Formaldehyd-Lösung 3,5-3,7%	Otto Fischar GmbH & Co. KG, Saarbrücken, Deutschland
	ROTEM® delta	Tem Innovations GmbH, München, Deutschland
Rotem Reagenzien	r ex-tem®	Tem Innovations GmbH, München, Deutschland
	hep-tem® in-tem® fib-tem® star-tem®20 ap-tem®	
Flüssiger Stickstoff	Stickstoff (flüssig)	MTI Industriegase, Ulm
BGA-Gerät	ABL System 625	Radiometer,

		Copenhagen, Dänemark
Eismaschine	S-No. 117165	Ziegra Eismaschinen, Isernhagen, Deutschland
Zentrifuge I	Rotina 38R	Hettich Lab Technology Tuttlingen, Deutschland
Zentrifuge II	Biofuge 13R	Heraeus Sepatech, Osterode, Deutschland
Kühlschrank	SN ST 102l	LIEBHERR, Bulle, Schweiz
Vortex-Schüttler	REAX2000	Heidolph, Schwabach, Deutschland
Proteinbestimmung	SYS1 BM/Hitachi 704/911	Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland
Kreatininbestimmung	Creatinine CR 511/ CR 528	Randox Laboratories Ltd., Ardmore, UK
AST/ALT-Bestimmung	RX Monza AL/AST	Randox Laboratories Ltd., Ardmore, UK

ELISA:

	8-Isoprostane EIA Kit	Cayman Chemical, Ann Abror, Michigan, USA
	Qantikine®-ELISA Porcine IL-6	R&D Systems,Europe Ltd, Abingdon, UK
	Qantikine®-ELISA Porcine IL-8	R&D Systems,Europe Ltd, Abingdon, UK
	Qantikine®-ELISA Porcine IL-10	R&D Systems,Europe Ltd, Abingdon, UK
	Qantikine®-ELISA Porcine TNF-α	R&D Systems,Europe Ltd, Abingdon, UK
	Pig NGAL ELISA Kit	BioPorto Diagnostics A/S, Gentofte, Dänemark
	Pig Cardiac Troponin-I ELISA Kit	Life Diagnostics, Inc., West Chester, UK
Photometer	Sunrise®	Tecan Group Ltd., Männerdorf, Schweiz

Datenauswertung:

Microsoft Office / 365 Home Premium	Microsoft, Redmond, Washington, USA
GraphPad Prism 6®	GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA
Zeiss Axio Vision Software rel 8.4	Zeiss, Jena, Deutschland
Windows 8	Microsoft, Redmond, Washington, USA

3 ERGEBNISSE

3.1 Allgemeine Ergebnisse

Sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der Interventionsgruppe haben wir unsere Daten an 9 Tieren erhoben. Das mediane Gewicht der Schweine, in der Kontrollgruppe, betrug 73 kg und es wurden im Schnitt 32 ml/kgKG Blut entnommen, um die Hämorrhagie herbeizuführen. In der Interventionsgruppe wurden im Mittel 28,4 ml/kgKG entnommen, bei einem mittleren Gewicht von 67 kg. Auch der Bedarf an Volumenersatzmitteln und Katecholaminen war in beiden Versuchsarmen ähnlich (s. Tab. 1).

Tab. 1: Allgemeine Daten
$^{\#}p < 0,05$ im Vergleich zwischen den Gruppen, $^{\S}p < 0,05$ im Vergleich zu Messzeitpunkt 1

	Kontrolle	**Intervention**
Durchschnittl. Gewicht (kg)	**73** (54; 80)	**67** (56; 81)
Duchschnittl. entnommenes Blutvolumen (ml/kgKG)	**32** (27; 34)	**28** (27; 30)
Durchschnittl. HAES-Bedarf (ml/kgKG)	**50** (50; 50)	**56** (50; 78)
Durchschnittl. Noradrenalinbedarf (µg/KG/min)	**2,31** (1,36; 6,55)	**4,82** (2,5; 8,06)
Durchschnittl. Urinausscheidung (ml/kgKG)	**57** (46; 59)	**26** (15; 43)

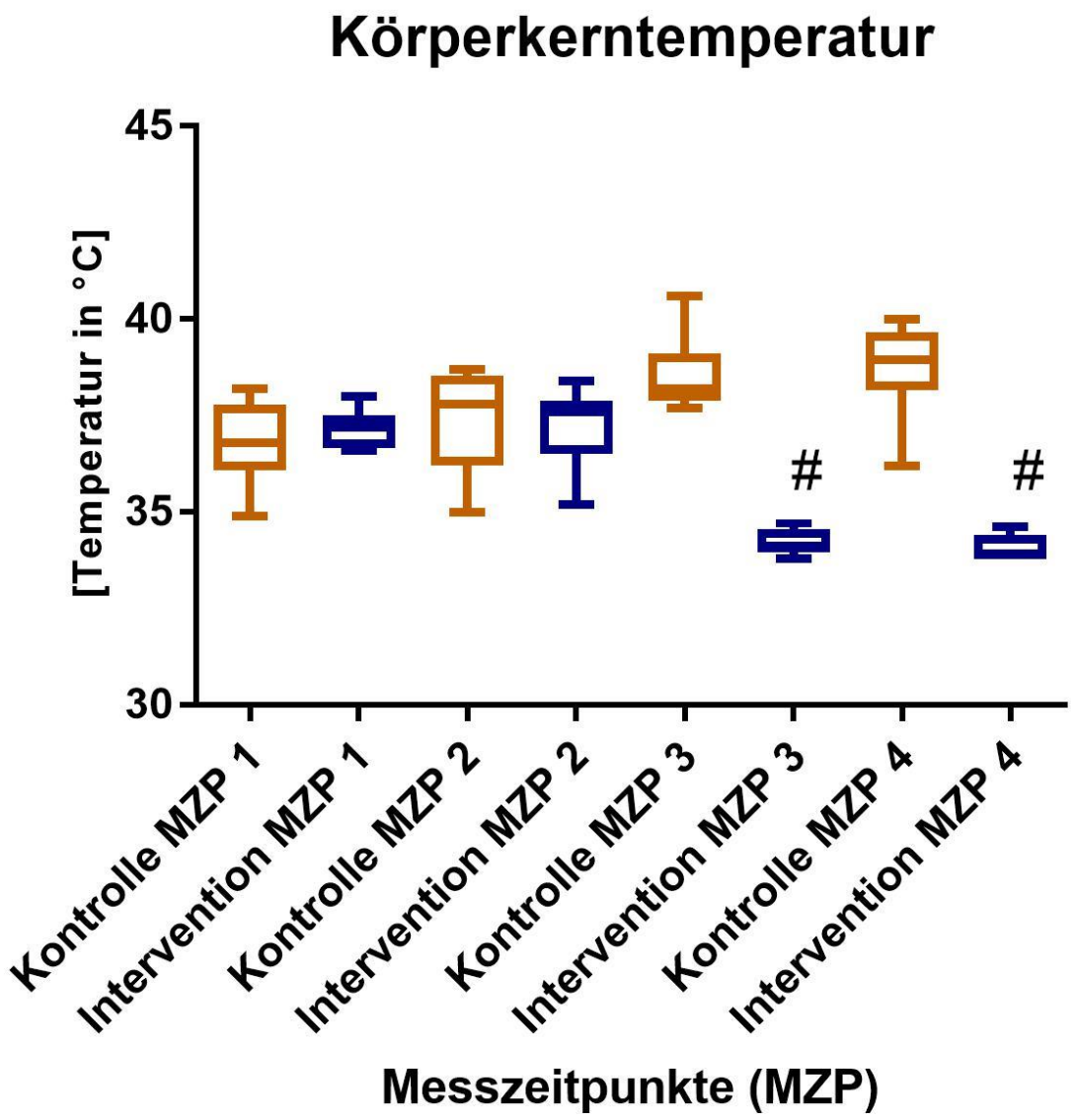


Abb. 9: Körperkerntemperatur in ° C

$^{\#}p < 0,05$ im Vergleich zur Kontrollgruppe, $^{\S}p < 0,05$ im Vergleich zu Messzeitpunkt 1

Insgesamt konnte in der Interventionsgruppe kein Vorteil für das Überleben gefunden werden und die Anzahl der Tiere, die bei Versuchsende noch lebten, war in beiden Gruppen identisch.

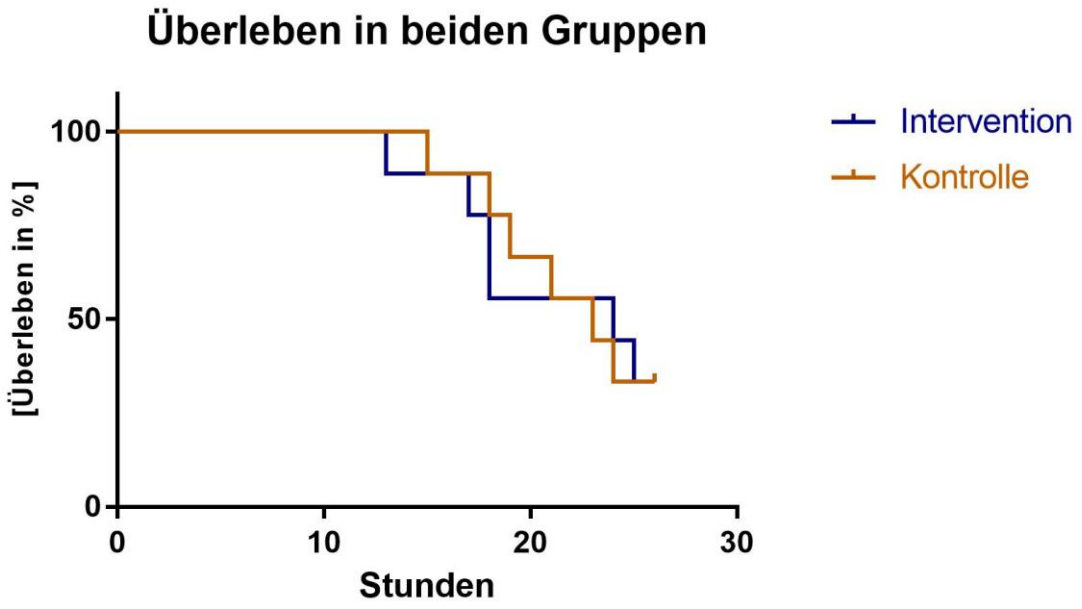


Abb. 10: Überleben in beiden Gruppen

3.2 Hämodynamik

Während des gesamten Versuches wurden kontinuierlich Parameter der Hämodynamik gemessen und aufgezeichnet. Die Parameter Herzfrequenz, mittlerer arterieller Blutdruck, Schlagvolumen, mittlerer pulmonalarterieller Druck, sowie der pulmonale Verschlussdruck wiesen zwischen den Versuchsgruppen keine signifikanten Veränderungen auf. Lediglich innerhalb der Gruppen kam es zu den, im Rahmen eines hämorrhagischen Schocks zu erwartenden, teilweise signifikanten Veränderungen dieser Parameter.

Allerdings kam es bei der gemessenen Auswurfleistung in den beiden Gruppen zu signifikant unterschiedlichen Werten nach der Reperfusion. So ist das Herzzeitvolumen zu Messzeitpunkt 4 mit 34 $ml*min^{-1}*kg^{-1}$ in der Interventionsgruppe deutlich unter dem der Kontrollgruppe (101 $ml*min^{-1}*kg^{-1}$). Auch innerhalb der Gruppen kam es ab Messzeitpunkt 2 (nach 4h Hämorrhagie) zu signifikanten Veränderungen, die allerdings in der Kontrollgruppe am Ende des Versuchs wieder das Ausgangsniveau erreichten. In der Interventionsgruppe hingegen, blieb das Herzzeitvolumen auch nach Reperfusion, Volumen- und Katecholamingabe weiterhin signifikant reduziert.

Der zentralvenöse Druck nahm innerhalb der beiden Gruppen signifikant ab und zu Messzeitpunkt 3 zeigte sich auch ein signifikanter Unterschied zwischen den Beiden.

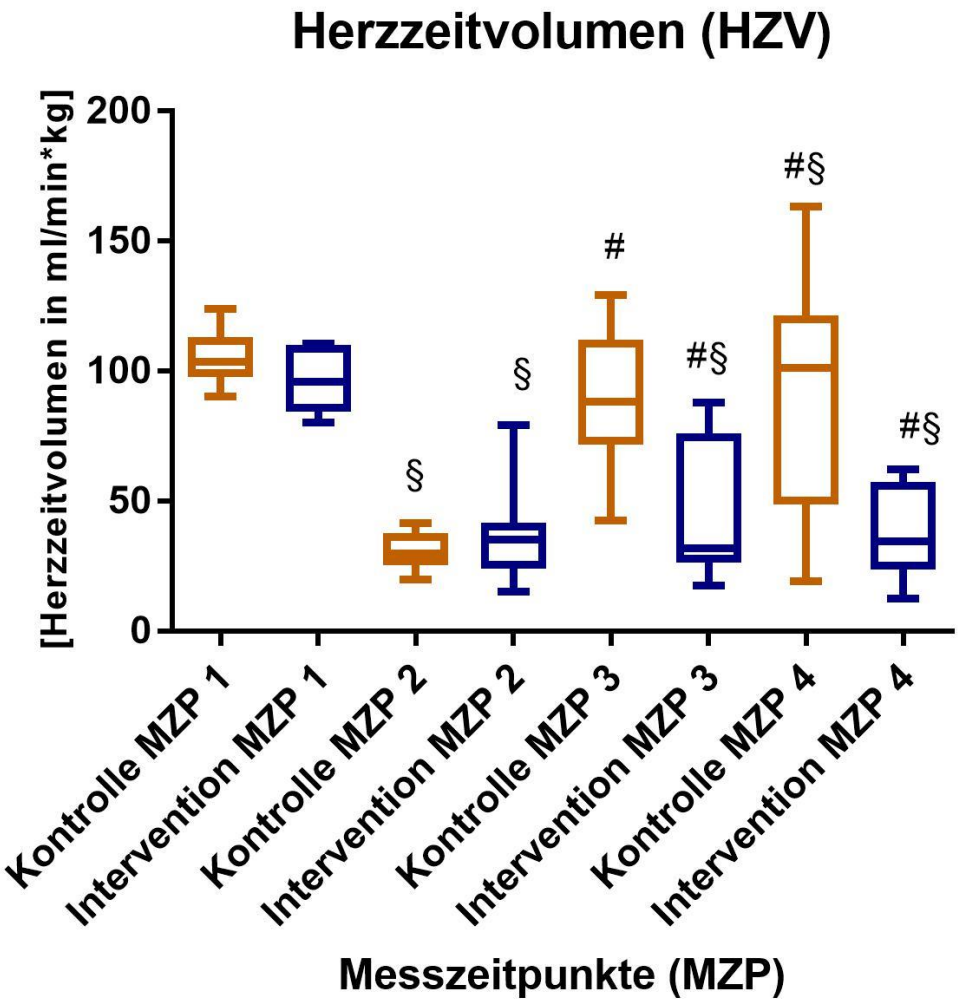


Abb. 11: Grafische Darstellung des Herzzeitvolumens (HZV)
$^{\#}p < 0,05$ im Vergleich zur Kontrollgruppe, $^{\S}p < 0,05$ im Vergleich zu Messzeitpunkt 1

Die Sauerstoffaufnahme wurde mit Hilfe des Fick‘schen Prinzips ausgerechnet und sank in der Interventionsgruppe erwartungsgemäß ab, allerdings nicht signifikant, trotz erfolgreicher Kühlung in den abgezielten Temperaturbereich um 34°C. Gleichzeitig stieg sie in der Kontrollgruppe, während des Versuchsablaufs, ebenfalls nicht signifikant an.
Die Temperaturdifferenz in beiden Versuchsgruppen wies die angestrebte Signifikanz auf. In der Kontrollgruppe blieb sie im normothermen Bereich, bzw, zu Versuchsende entwickelte sich ein leichte von außen nicht beeinflusste Hyperthermie von 1-2 °C auf. Die Interventionsgruppe konnte hingegen bei 34°C, mit einer Abweichung von +- 0,1°C, gehalten werden.

Tab. 2: Parameter der Hämodynamik

$^{\#}p < 0,05$ im Vergleich zur Kontrollgruppe, $^{\S}p < 0,05$ im Vergleich zu Messzeitpunkt 1

		Vor Hämorrhagie	Nach 4h Hämorrhagie	Nach 12h Intervention	Nach 24h Intervention
Herzfrequenz (/min)	Kontrolle	**109** (96; 115)	**190** (163; 199)	**157** (148; 170)§	**161** (147; 193)§
	Intervention	**111** (100; 125)	**185** (171; 195)$^{\#}$	**150** (125; 157)	**142** (137; 148)
Mittlerer arterieller Blutdruck (mmHg)	Kontrolle	**108** (96; 113)	**34** (32; 38)	**84** (70; 92)	**71** (61; 92)
	Intervention	**109** (109; 112)	**35** (33; 38)$^{\#}$	**70** (58; 82)	**69** (54; 77)
Mittlerer pulmonalart. Blutdruck (mmHg)	Kontrolle	**28** (21; 33)	**20** (18; 26)	**33** (28; 39)	**38** (33; 42)
	Intervention	**29** (26; 34	**23** (18; 27)	**29** (26; 39)	**35** (30; 53)
Pulmonaler Verschlussdruck (mmHg)	Kontrolle	**8** (5; 11)	**3** (2; 5)	**15** (13; 16)	**18** (17; 18)§
	Intervention	**7** (5; 9)	**3** (2; 6)	**14** (12; 17)§	**18** (12; 23)§
Schlagvolumen (ml/kg)	Kontrolle	**1,1** (0,9; 1,2)	**0,2** (0,1; 0,3)	**0,7** (0,5; 0,8)	**0,5** (0,3; 0,8)
	Intervention	**1,0** (0,8; 1,1)	**0,2** (0,2; 0,2)$^{\#}$	**0,3** (0,2; 0,8)§	**0,4** (0,2; 0,6)
Herzzeitvolumen (ml/min*kg)	Kontrolle	**103** (102; 113)	**29** (28; 35)	**88** (81; 110)	**101** (68; 111)
	Intervention	**98** (93; 110)	**35** (27; 38)$^{\#}$	**32** (31; 67)$^{\#\S}$	**34** (24; 52)$^{\#\S}$
Sauerstoff-aufnahme (mlO_2/min*kg)	Kontrolle	**3,4** (2,8; 3,9)	**2,9** (2,6; 3,7)	**4,2** (3,4; 5,0)	**4,3** (2,7; 5,2)
	Intervention	**3,3** (2,6; 5,0)	**3,3** (2,2; 3,5)	**3,4** (2,5; 3,8)	**2,2** (1,7; 4,9)
Zentralvenöser Druck (mmHg)	Kontrolle	**6** (3; 7,5)	**1** (0,5; 4)	**15** (12; 16)$^{\#\S}$	**17** (13,5; 205)§
	Intervention	**6** (3,5; 8)	**1** (0; 2)	**12** (10; 14)$^{\#}$	**15** (13; 22)§

3.3 Blutgasanalyse

In stündlichem Abstand wurden arterielle Blutproben für Blutgasanalysen entnommen und ausgewertet, auch um die Beatmungsparameter nach Protokoll anpassen zu können. In der Interventionsgruppe wurde nach Retransfusion aufgrund des Versuchsdesigns ein FiO_2 von 1,0 eingestellt und beibehalten. Im Rahmen dessen kam es auch zu signifikanten Unterschieden beim paO_2 ab Messzeitpunkt 3 im Vergleich zwischen Kontrollgruppe und Intervention, aber auch innerhalb der Gruppen. So ist der PaO_2 zum diesem Messzeitpunkt in der Kontrollgruppe auf 116 mmHg gestiegen, während er beim Interventionsarm bereits bei 452 mmHg liegt. Beim letzten Messzeitpunkt nach 24 h Intervention zeigt sich der PaO_2 bei den regulär behandelten Versuchstieren relativ konstant bei 106 mmHg, während er bei den Tieren mit experimenteller Behandlung bereits wieder auf 260 mmHg abfällt. Beim Horowitz-Index gibt es ebenfalls signifikante Unterschiede in der Kontrollgruppe zwischen Messzeitpunkt 1 und 4.

Ansonsten kam es, ebenfalls nach Retransfusion, nur beim endtidalen CO_2 zu signifikanten Unterschieden zwischen den Versuchsarmen. Der arterielle PaCO2 wies keinerlei signifikante Veränderungen auf. Sonstige Beatmungsparameter wie Atemminutenvolumen und Spitzenbeatmungsdrücke, nahmen lediglich im nicht signifikanten Bereich in beiden Gruppen zu.

Das Shuntvolumen der nicht belüfteten Lungenanteile nahm in beiden Gruppen ab, zeigte allerdings nur in der Interventionsgruppe auch einen signifikanten Anstieg, bei keinerlei signifikanten Unterschieden zwischen den Gruppen.

Tab. 3: Parameter der Blutgasanalysen

[#]p < 0,05 im Vergleich zur Kontrollgruppe, [§]p < 0,05 im Vergleich zu Messzeitpunkt 1

		Vor Hämorrhagie	Nach 4h Hämorrhagie	Nach 12h Intervention	Nach 24h Intervention
Arterieller PO_2 (mmHg)	Kontrolle	**88** (76; 100)	**73** (69; 78)	**116** (101; 130)	**101** (90; 118)
	Intervention	**81** (71; 89)	**76** (65; 89)	**452** (195; 545)[#§]	**260** (145; 434)[#§]
Horowitz-Index (PaO_2/FiO_2 in mmHg)	Kontrolle	**419** (389; 459)	**349** (331; 364)	**354** (337; 387)	**299** (256; 322)[§]
	Intervention	**388** (364; 405)	**341** (310; 374)	**452** (249; 525)	**260** (191; 423)
Arterieller PCO_2 (mmHg)	Kontrolle	**35** (33; 37)	**37** (34; 40)	**34** (33; 38)	**34** (29; 35)
	Intervention	**35** (33; 36)	**38** (33; 40)	**36** (33; 38)	**35** (32; 36)
Shuntvolumen (%)	Kontrolle	**20** (16; 23)	**16** (11; 18)	**18** (15; 22)	**18** (16; 29)
	Intervention	**22** (17; 30)	**11** (8; 19)[§]	**19** (14; 23)	**13** (8; 18)[§]
AMV (l/min)	Kontrolle	**6,8** (5,2; 8,2)	**6,8** (5,3; 9,0)	**8,4** (7,7; 11,7)	**8,3** (7,3; 10,8)
	Intervention	**6,9** (4,1;7,5)	**6,8** (3,9; 7,5)	**8,9** (5,1; 11,3)	**8,4** (6,7; 10,8)
Pplat (cmH_2O)	Kontrolle	**15** (10; 20)	**17** (11; 18)	**25** (21; 26)[§]	**29** (26; 30)[§]
	Intervention	**16** (11; 18)	**17** (13; 19)	**26** (24; 36)[§]	**35** (27; 48)[§]

3.4 Stoffwechsel

Gerade beim Säure-Base-Haushalt kam es zu relevanten Veränderungen innerhalb der Gruppe und nach Einleitung des hämorrhagischen Schocks. So steigt das arterielle Laktat in der Interventionsgruppe signifikant über alle Messzeitpunkte nach Hämorrhagie, während es in der Kontrollgruppe nach 12 h regulärer Behandlung keinen signifikanten Unterschied mehr zum Zeitpunkt vor Hämorrhagie aufweist. Gleichzeitig verändern sich pH und Base-Excess in der Kontrollgruppe schneller in signifikant schlechtere Bereiche, ohne aber so schlecht zu werden, wie in der Interventionsgruppe. Auch das Bicarbonat fällt in beiden Gruppen signifikant ab. Dabei fällt es in der Kontrollgruppe weniger stark ab als bei der Intervention, ohne sich allerdings zu irgendeinem Messzeitpunkt signifikant zu unterscheiden.

Bei den Elektrolyten zeigten sich über alle Versuchstiere gleichmäßig verteilte Anstiege der Chloridspiegel und leichte Erhöhungen des Kaliumspiegels in der Kontrollgruppe.

Der Hämoglobinwert verändert sich signifikant unterschiedlich in beiden Gruppen ab Messzeitpunkt 3, wobei er bei der Interventionsgruppe mehr zunimmt als bei der Kontrollgruppe.

Tab. 4: Parameter des Stoffwechsels

$^{\#}p < 0,05$ im Vergleich zur Kontrollgruppe, $^{\S}p < 0,05$ im Vergleich zu Messzeitpunkt 1

		Vor Hämorrhagie	Nach 4h Hämorrhagie	Nach 12h Intervention	Nach 24h Intervention
Blutzucker (mg/dl)	Kontrolle	**115** (99; 137)	**69** (40; 102)§	**94** (75; 150)	**73** (51; 112)$^{\#}$
	Intervention	**112** (101; 130)	**77** (67; 94)	**130** (114; 203)	**187** (125; 212)$^{\#\S}$
Arterieller pH	Kontrolle	**7,49** (7,46; 7,50)	**7,32** (7,24; 7,36)§	**7,31** (7,06; 7,37)§	**7,31** (7,02; 7,33)§
	Intervention	**7,49** (7,47; 7,55)	**7,38** (7,26; 7,49)	**7,11** (6,93; 7,39)§	**7,06** (6,96; 7,12)§
Arterielles Laktat (mmol/l)	Kontrolle	**1,0** (0,8; 1,4)	**5,5** (3,0; 7,3)§	**2,8** (1,1; 9,9)	**2,3** (1,0; 9,7)
	Intervention	**1,1** (0,9; 1,2)	**6,4** (2,9; 8,4)§	**6,1** (2,4; 13,1)§	**6,9** (5,3; 8,9)§
Na^+ (mmol/l)	Kontrolle	**144** (139; 144)	**143** (140; 146)	**144** (143; 146)	**146** (144; 149)
	Intervention	**142** (139; 144)	**141** (139; 144)	**145** (142; 146)	**144** (140; 148)
K^+ (mmol/l)	Kontrolle	**3,4** (3,3; 3,5)	**4,3** (3,5; 4,8)	**5,2** (4,3; 6,2)§	**5,5** (4,5; 6,9)§
	Intervention	**3,6** (3,3; 4,1)	**4,3** (3,3; 4,6)	**4,3** (3,5; 5,2)	**4,4** (3,6; 5,7)
Cl^- (mmol/l)	Kontrolle	**102** (101; 108)	**105** (103; 110)	**118** (114; 119)§	**118** (117; 122)§
	Intervention	**102** (98; 106)	**104** (99; 109**)**	**117** (108; 122)§	**124** (114; 126)§

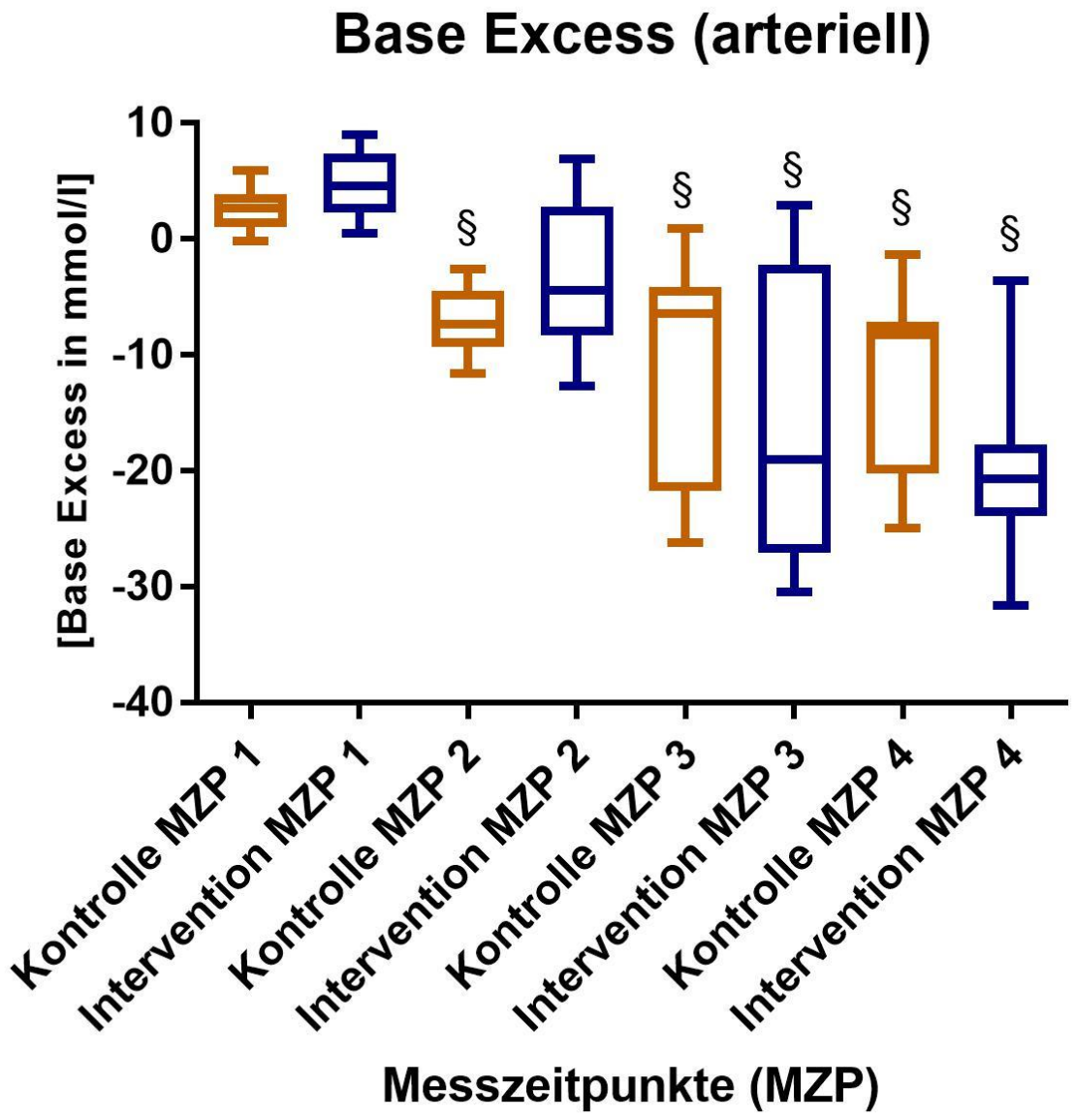


Abb. 12: Grafische Darstellung des arteriellen Base-Excess

$^{\#}p < 0,05$ im Vergleich zur Kontrollgruppe, $^{\S}p < 0,05$ im Vergleich zu Messzeitpunkt 1

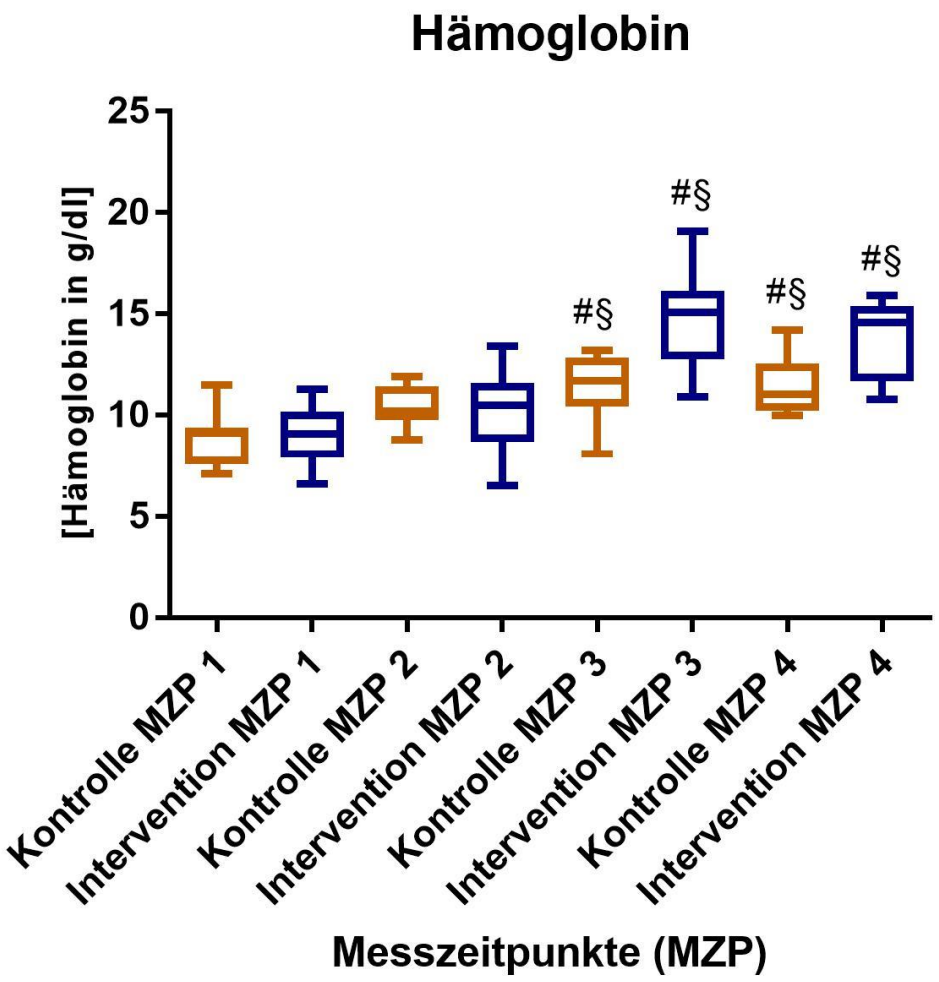


Abb. 13: Grafische Darstellung des arteriellen Hämoglobins

$^{\#}p < 0,05$ im Vergleich zur Kontrollgruppe, $^{\S}p < 0,05$ im Vergleich zu Messzeitpunkt 1

3.5 Nierenfunktiosnwerte

Bei den Nierenwerten gibt es ausschließlich beim Kreatinin signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen und zwar zu den Messzeitpunkten 3 und 4, also nach erfolgtem hämorrhagischen Schock, wobei die Kontrollgruppe höhere Werte zeigt als die Interventionsgruppe. Ansonsten verschlechtern sich der renalvenöse ph-Wert und das entsprechende Laktat, sowie das Neutrophil-gelatinase-associated-lipocalin (NGAL) signifikant innerhalb der Gruppen mit zunehmender Versuchsdauer. Die organspezifische Sauerstoffausschöpfung der Niere, die Kreatininclearance und die fraktionelle Natrium-Exkretion verändern sich hingegen nicht signifikant, weder innerhalb noch zwischen den Versuchsgruppen.

Tab. 5: Parameter der Nierenfunktion

[#]p < 0,05 im Vergleich zur Kontrollgruppe, [§]p < 0,05 im Vergleich zu Messzeitpunkt 1

		Vor Hämorrhagie	Nach 4h Hämorrhagie	Nach 12h Intervention	Nach 24h Intervention
Kreatinin (µmol/l)	Kontrolle	**104** (94; 122)	**191** (163; 219)[§]	**193** (171; 212)[§]	**225** (203; 249)[§]
	Intervention	**103** (91; 111)	**166** (142; 191)[§]	**152** (118; 163)[#§]	**141** (131; 177)[#§]
Kreatinin-Clearance (ml/min)	Kontrolle			**35** (14;67)	**15** (2;50)
	Intervention			**26** (16;51)	**9** (3;21)
Fr. Na-Exkretion (%)	Kontrolle			**4,6** (2,4; 5,3)	**2,0** (1,3; 8,4)
	Intervention			**3,6** (2,4; 6,2)	**1,5** (0,8; 2,7)
ph, renalvenös	Kontrolle	**7,48** (7,45; 7,49)	**7,30** (7,24; 7,34)[§]	**7,31** (7,03; 7,37)[§]	**7,30** (6,87; 7,35)[§]
	Intervention	**7,49** (7,44; 7,53)	**7,38** (7,18; 7,42)	**7,15** (6,86; 7,33)[§]	**6,91** (6,79; 7,07)[§]
Laktat, renalvenös (mmol/l)	Kontrolle	**1,0** (0,7; 1,5)	**5,6** (4,7; 6,9)[§]	**2,3** (1,3; 9,9)	**2,0** (0,9; 10,3)
	Intervention	**1,2** (0,9; 1,2)	**6,0** (2,2; 8,6)[§]	**6,4** (2,0; 13,7)[§]	**8,9** (6,0; 11,2)[§]
renale Sauerstoff-aufnahme ($ml O_2/min*kg$)	Kontrolle	**2,6** (1,8; 5,9)	**1,3** (1,1; 2,3)	**4,6** (3,6; 6,2)	**3,9** (2,5; 5,3)
	Intervention	**3,0** (2,1; 3,6)	**1,7** (1,3; 3,8)	**3,2** (1,9; 5,6)	**2,7** (2,0; 4,9)
NGAL (ng/g Protein)	Kontrolle	**1,9** (1,5; 2,4)	**6,9** (6,1; 8,9)[§]	**13,9** (7,4; 17,6)[§]	**29,0** (9,9; 47,6)[§]
	Intervention	**2,0** (1,6; 2,1)	**6,0** (4,9; 7,2)	**10,5** (7,6; 25,9)[§]	**32,5** (15,1; 45,7)[§]

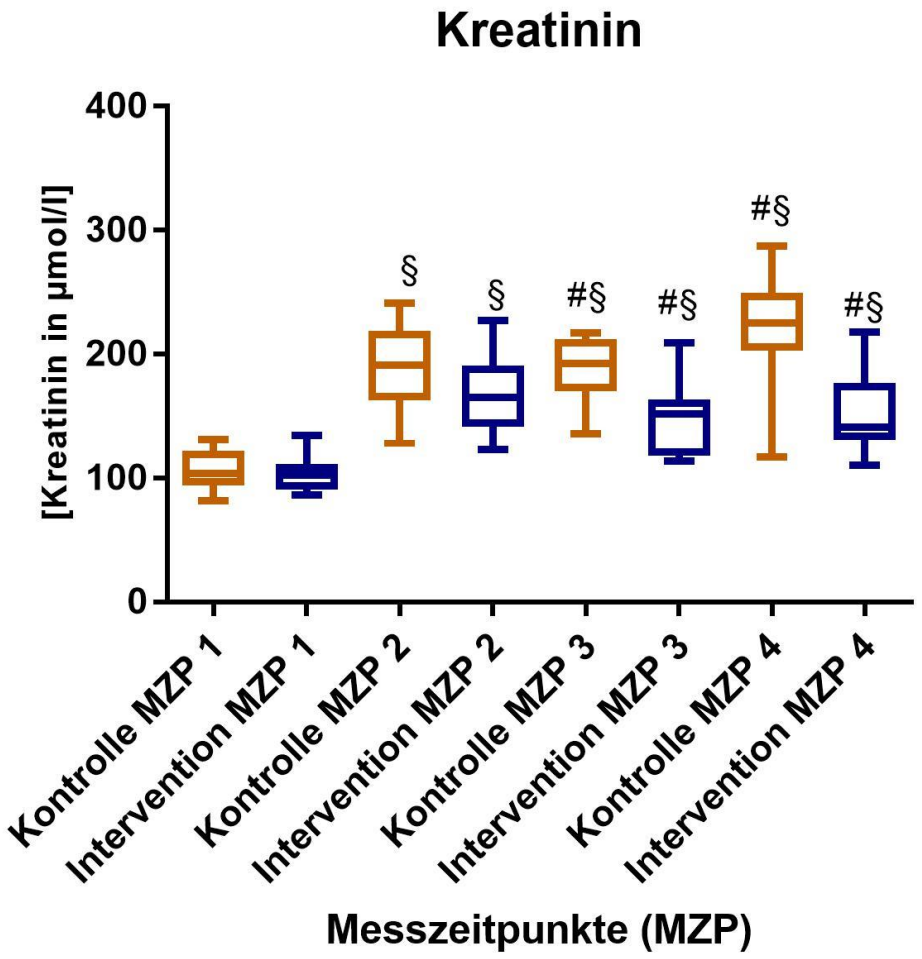


Abb. 14: Grafische Darstellung des Serum-Kreatinin-Werts

$^{\#}p < 0,05$ im Vergleich zur Kontrollgruppe, $^{\S}p < 0,05$ im Vergleich zu Messzeitpunkt 1

3.6 Immunhistochemie der Niere

Immunhistochemisch wurde die Expression der Cystathionin-Gamma-Lyase (CTH), gemessen.

Dieser Parameter konnte ausschließlich nach Abschluss des Versuches aus Gewebeproben der Niere bestimmt werden, weshalb es hier keine Messungen zu verschieden Zeitpunkten gab.

Auch wenn die Expression des Enzyms in der Interventionsgruppe im Allgemeinen höher war, konnte bei dieser Untersuchung keinerlei signifikanter Unterschied zwischen den beiden Versuchsarmen festgestellt werden.

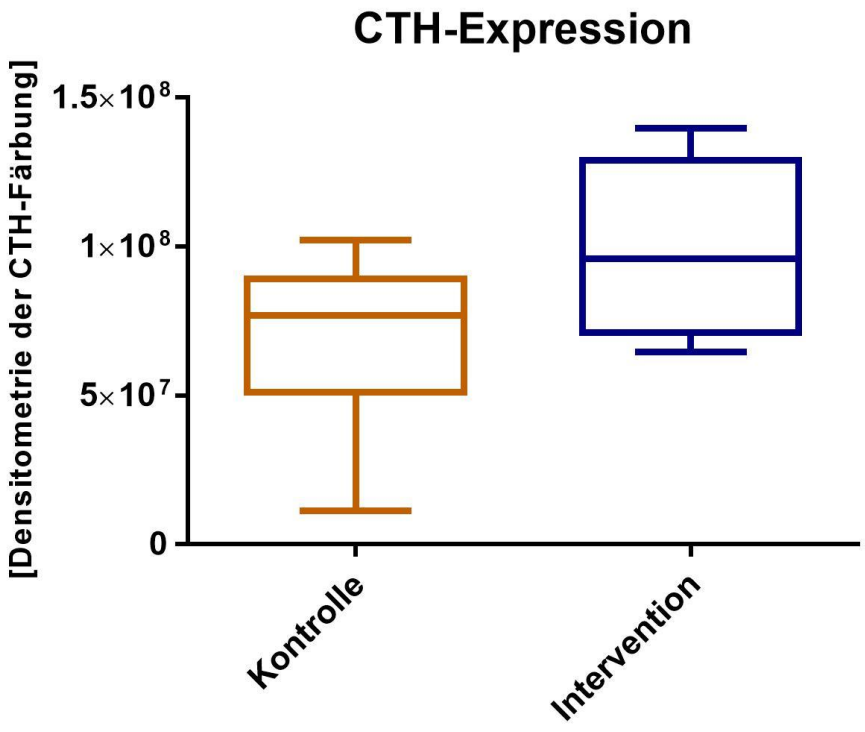


Abb. 15: Immunhistochemische Auswertung der Expression der Cystathionin-Gamma-Lyase im Nierengewebe
CTH = Cystathionin-Gamma-Lyase

Bei der Anfärbung von Nytrotyrosin zum Nachweis von nitrosativen und oxidativem Stress kam es ebenfalls zu keinerlei signifikanten Unterschieden.

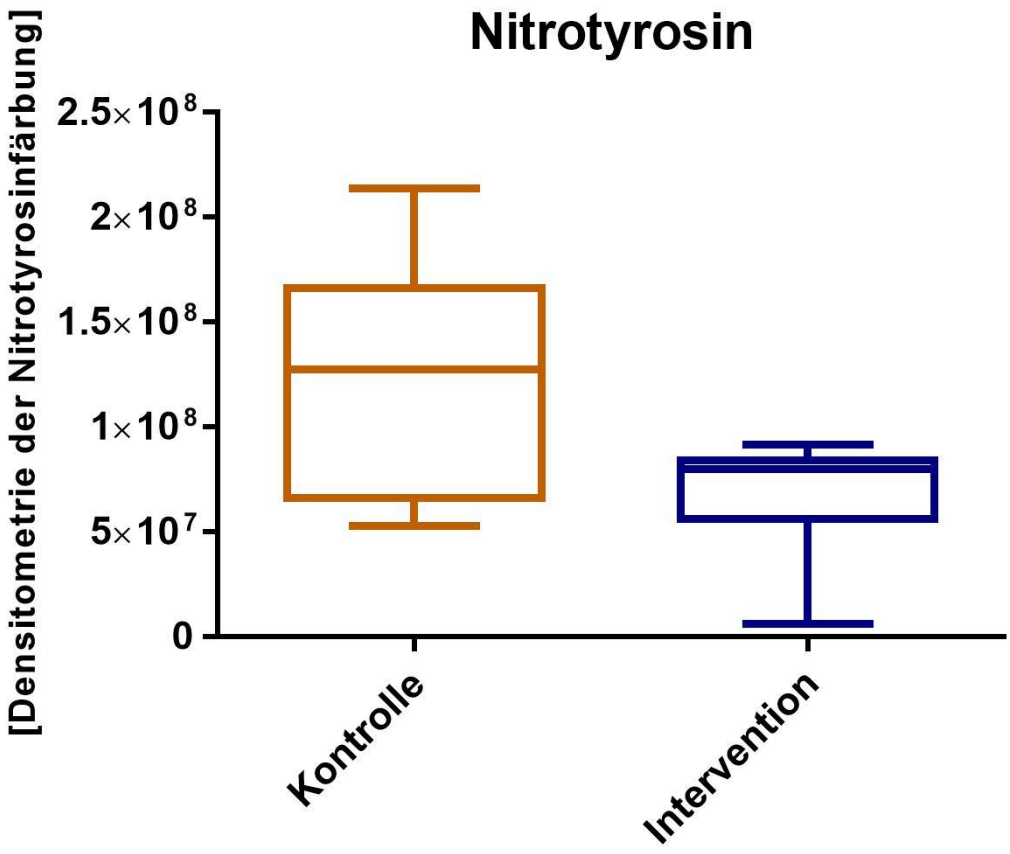


Abb. 16: Immunhistochemische Auswertung der Nitrotyrosin-Bildung im Nierengewebe

3.7 Gerinnung

Primär wurden die Daten zum Gerinnungssystem mittels Rotationsthrombelastometrie (Rotem) erhoben. Zusätzlich wurde, im Rahmen des kleinen Blutbilds, die Anzahl der Thrombozyten pro µl Blut erfasst. Hierbei kam es zum signifikanten Verlust von Thrombozyten innerhalb der Gruppen ab dem Messzeitpunkt 12 h nach Intervention bis zum Versuchsende hin. Zusätzlich war bei Messzeitpunkt 3 in der hypothermen Gruppe die Thrombozytenzahl signifikant geringer, als in der Kontrollgruppe. Dieser Trend setzt sich auch fort, ist aber bei Versuchsende nicht mehr signifikant.

Die Clottingtime (CT) erhöhte sich innerhalb der Interventionsgruppe signifikant nach 12 h Intervention und stieg bis zum Versuchsende, allerdings nicht signifikant mehr als in der Kontrollgruppe. Die maximale Clotfirmness (MCF) sinkt innerhalb der beiden Gruppen ab MZP3 signifikant ab. Diese Messungen wurden alle unter Zugabe von Heparinase durchgeführt, um Heparin-bedingte Verfälschungen der Messergebnisse zu verhindern.

In der fibtem-messung wird durch die Zugabe von Cytochalasin D die Thrombozytenaggregation verhindert und es kann die alleinige Aktivität des Fibrinogens gemessen werden. Bei dieser Messung kam es aber wieder lediglich zu Unterschieden innerhalb der Gruppen, aber nicht zu Unterschieden zwischen den Gruppen.

Bei der Gerinnselauflösung unterscheiden sich hingegen beide Gruppen voneinander. Bereits 4h nach Hämorrhagie kam es zu einer signifikant verschlechterten maximalen Lyse (ML) der Gerinnsel in der Interventionsgruppe gegenüber der Kontrolle. Gleichzeitig sank in beiden Gruppen die Lysefähigkeit signifikant bis zum Versuchsende, wobei es dann keinen signifikanten Unterschied mehr zwischen den Gruppen gab.

Zusätzlich hat man noch quantitative Messungen des Von-Willebrand-Faktors (vWF) und der Thrombin-Antithrombin-Komplexe (TAT) vorgenommen. Der Von Willebrand-Faktro zeigte innerhalb der Gruppen einen signifikanten Anstieg ab MZP 3 während der TAT insgesamt eher inkonsistente Ergebnisse zeigte.

Tab. 6: Parameter der Gerinnung

[#]p < 0,05 im Vergleich zur Kontrollgruppe, [§]p < 0,05 im Vergleich zu Messzeitpunkt 1

		Vor Hämorrhagie	Nach 4h Hämorrhagie	Nach 12h Intervention	Nach 24h Intervention
Thrombozyten (10^9/µl)	Kontrolle	**202** (139; 244)	**151** (111; 217)	**83** (69; 119)[§]	**63** (46; 98)[§]
	Intervention	**244** (216; 322)	**155** (128; 189)	**112** (88; 199)[#§]	**103** (50; 147)[§]
Coagulationtime (CT,heptem in s)	Kontrolle	**150** (133; 179)	**171** (149; 217)	**191** (149; 201)	**210** (150; 240)
	Intervention	**150** (136; 165)	**196** (160; 217)	**240** (174; 255)[§]	**237** (218; 271)[§]
max. Clotfirmness (MCF, heptem in mm)	Kontrolle	**59** (58; 65)	**57** (55; 62)	**50** (39; 54)[§]	**48** (42; 58)
	Intervention	**60** (59; 69)	**57** (54; 63)	**49** (44; 57)[§]	**53** (45; 59)[§]
max. Clotfirmness (MCF, fibtem in mm)	Kontrolle	**18** (15; 23)	**12** (10; 20)	**5** (3; 11)[§]	**5** (3; 5)[§]
	Intervention	**19** (11; 25)	**10** (7; 16)	**5** (4; 5)[§]	**4** (3; 6)[§]
max. Lyse (ML, %)	Kontrolle	**21** (19; 23)	**22** (21; 24)[#]	**11** (10; 12)[§]	**10** (6; 14)[§]
	Intervention	**21** (17; 23)	**20** (7; 22)[#]	**7**(6; 11)[#§]	**8** (4; 9)[§]
Von Willebrand-Faktor (U/l)	Kontrolle	**170** (142;171)	**316** (291; 382)	**433** (391; 501)[§]	**464** (404; 600)[§]
	Intervention	**193** (170; 225)	**297** (248; 383)	**402** (285; 545)[§]	**430** (253; 559)[§]
Thrombin-Antithrombin-Komplexe (µg/l)	Kontrolle	**21** (17;65)	**70** (59;217) [§]	**57** (53;141) [§]	**50** (32;117)
	Intervention	**23** (14;47)	**101** (48;247) [§]	**54** (45;138) [§]	**185** (58;201) [§]

3.8 Entzündungsparameter

Um den Grad der Entzündungsreaktion bei den Versuchstieren zu messen, wurde IL-1β, IL-10, TNF-α, IL-6 und Isoprostane-8 mittels ELISA bestimt. Gleichzeitig wurde Troponin als herzspezifischer Marker des Zelluntergangs gemessen. Für diese Messungen wurde zunächst die Gesamtmenge an Protein in g/l im Serum gemessen und anschließend alle Enzyme, relativ dazu, in der Einheit ng/g Protein bestimmt.

Die Zytokine zeigten unabhängig davon, ob sie proinflammatorisch oder entzündungshemmend wirkten, keinerlei signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Innerhalb der Gruppen kam es jedoch immer zur signifikanten Zunahme der Inflammationsparameter pro Gramm Gesamtprotein im Serum ab Messzeitpunkt 3 (12 Stunden nach Hämorrhagie). Alleine das Interleukin-6 stieg in der Kontrollgruppe schon zu Messzeitpunkt 2, am Ende der Schockphase, auf signifikant unterschiedliche Werte an, im Vergleich zu Messzeitpunkt 1 (vor Hämorrhagie).

Auch beim Troponin kam es ausschließlich innerhalb der Gruppen zu signifikanten Unterschieden.

Tab. 7: Parameter der Entzündungsreaktion

[#]p < 0,05 im Vergleich zur Kontrollgruppe, [§]p < 0,05 im Vergleich zu Messzeitpunkt 1

		Vor Hämorrhagie	Nach 4h Hämorrhagie	Nach 12h Intervention	Nach 24h Intervention
Protein, gesamt (Plasma) (g/l)	Kontrolle	**44** (38; 48)	**41** (35; 42)	**33** (23; 37)[§]	**32** (22; 38)[§]
	Intervention	**44** (43; 48)	**40** (36; 41)	**28** (23; 37)[§]	**22** (15; 33)[§]
Interleukin-1β ng/g Protein)	Kontrolle	**0,2** (0,2; 0,3)	**0,2** (0,2; 0,3)	**3,0** (0,3; 6,6)[§]	**5,2** (0,5; 8,9)[§]
	Intervention	**0,2** (0,2; 0,2)	**0,3** (0,2; 0,3)	**0,4** (0,3; 1,0)[§]	**2,6** (0,4; 14,5)[§]
Interleukin -10 (ng/g Protein)	Kontrolle	**0,2** (0,2; 0,3)	**0,2** (0,2; 0,3)	**0,3** (0,3; 0,4)[§]	**0,3** (0,3; 0,7)[§]
	Intervention	**0,2** (0,2; 0,2)	**0,2** (0,2; 0,3)	**0,3** (0,3; 0,4)[§]	**0,4** (0,3; 0,7)[§]
Tumornekrosefaktor-α (ng/g Protein)	Kontrolle	**0,5** (0,4; 0,7)	**1,0** (0,9; 1,8)	**2,4** (1,5; 3,2)[§]	**3,7** (1,9; 6,6)[§]
	Intervention	**0,9** (0,5; 1,8)	**1,3** (0,9; 2,0)	**2,6** (1,4; 5,3)[§]	**7,0** (2,3; 13,8)[§]
Interleukin -6 (ng/g Protein)	Kontrolle	**1** (1; 1)	**8** (6; 16)[§]	**13** (3; 52)[§]	**77** (14; 233)[§]
	Intervention	**0** (0; 1)	**8** (4; 10)	**19** (10; 35)[§]	**32** (22; 75)[§]
Isoprostane-8 (ng/g Protein)	Kontrolle	**0,8** (0,7; 1,2)	**1,2** (1,1; 1,5)	**2,0** (1,6; 3,5)[§]	**3,4** (2,0; 7,6)[§]
	Intervention	**1,2** (0,8; 2,1)	**1,7** (1,2; 2,8)	**3,5** (2,7; 5,0)[§]	**4,2** (3,9; 6,0)[§]
Troponin (ng/g Protein)	Kontrolle	**1** (0; 2)	**33** (9; 36)	**1014** (765; 1630)[§]	**556** (394; 1267)[§]
	Intervention	**1** (0; 2)	**18** (3; 60)	**659** (133; 1480)[§]	**392** (142; 2152)[§]

4 DISKUSSION

In der vorliegenden Dissertation wurde ein Tierversuchsmodell zur experimentellen Behandlung des traumatischen hämorrhagischen Schocks vorgestellt. Als Hypothese lag die Annahme zu Grunde, dass eine Optimierung der Sauerstoffmangelsituation durch ein erhöhtes Angebot, bei gleichzeitig minimiertem Bedarf, mittels hypothermer und hyperoxischer Behandlung, das Outcome eines hämorrhagischen Schocks verbessern könnte.

4.1 Das Studienmodell

Bei dieser prospektiven, kontrollierten und randomisierten Studie, zur Behandlung des hämorrhagischen Schocks nach Trauma, wurde ein Versuchsmodell mit initialem Trauma, durch die Instrumentierung, und anschließender Hämorrhagie gewählt, entsprechend dem aktuellen Stand der Forschung auf diesem Gebiet (Hauser 2005; Hildebrand et al. 2013; Lomas-Niera et al. 2005). Speziell bei der Verwendung von Schweinen in Großtierversuchen zum Polytrauma mit oder ohne hämorrhagischen Schock liegt eine ausreichende Evidenz in der aktuellen Literatur vor (Hildebrand et al. 2013). Gleichzeitig konnte unser Institut eine ausreichende Erfahrung im Umgang mit entsprechenden Tierversuchsmodellen vorweisen (Gröger et al. 2013; Bracht et al. 2012). Gerade die Kombination von Polytrauma und Hämorrhagie kommt dem realen klinischen Setting sehr nahe, da die Mehrzahl der polytraumatisierten Patienten, die keine schweren Schädel-Hirn-verletzungen erleiden, aufgrund von zum Beispiel abdominellen Verletzungen und damit verbundenen schweren Hämorrhagien versterben (Kauvar u. Wade 2005; Bardenheuer et al. 2000). Somit war auch die Instrumentierung der Versuchstiere (inkl. querer Laparotomie) als ein adäquates Trauma zur Auslösung eines hämorrhagischen Schocks zu bewerten.

In diesem Modell wurde eine kombinierte blutdruck- und volumengesteuerte kontrollierte Hämorrhagie durchgeführt, die, im Vergleich zu einer unkontrollierten Hämorrhagie, ein Langzeitmodell möglich machte (Hildebrand et al. 2013). Da beim unkontrollierten Schock zwar realitätsnähere Traumata gesetzt werden können, allerdings auch gleichzeitig keine kontrollierbaren Bedingungen herrschen, schied diese Methode in der vorliegenden Studie aus. Im Rahmen der unkontrollierten Hämorrhagie kann es zudem zu Fällen der frühen Letalität bei z.B. chirurgisch nicht kontrollierbaren Blutungen kommen, die für die

Experimentaltherapie in der vorliegenden Dissertation nicht in Frage kommen (Cavalcante et al. 2011; Sondeen et al. 2007). Also wählten wir diese Durchführung der Hämorrhagie mit einem Ziel-MAD von 35 mmHg, bei dem wir zudem zeigen konnten, dass der prozentuale Anteil des entnommenen Blutvolumens zwischen den Gruppen im Mittel vergleichbar war. Auch wenn unser Modell lediglich 34 Stunden dauerte, so bildete es eben doch die Auswirkungen, wie SIRS und Multiorganversagen (MOV) ab, die hauptsächlich für die späte Letalität verantwortlich sind (Holcroft u. Trunkey 1983; Schlag et al. 1991; Yao et al. 1998).

Bei der therapeutischen Hypothermie wurde im hier beschriebenen Versuchsmodell eine milde Hypothermie gewählt, da sie von der Durchführbarkeit auch im präklinischen Setting realistisch ist und weil keine signifikante Kompromittierung der Gerinnung zu erwarten ist (Rohrer u. Natale 1992; Staikou et al. 2011; Mohr et al. 2013). Bei der möglichst schnellen Einleitung der Hypothermiebehandlung hielten wir uns an bestehende Empfehlungen zu Therapiekonzepten, was mit dem eingesetzten Coolguard®-Katheter auch unproblematisch umzusetzen und dauerhaft zu kontrollieren ist. Während tiefere Temperaturen eventuell therapeutisch effektiver sein könnten, sind sie jedoch in der Praxis schwerer durchführbar und haben ebenfalls einen wesentlich schlechteren Einfluss auf die Homöostase, was unter den gegebenen Umständen unbedingt zu vermeiden wäre (Polderman u. Herold 2009; Tisherman 2010). Zudem konnten durch diese Wahl auch andere Nebenwirkungen wie übermäßige Abnahme des HZV, erhöhtes Infektionsrisiko und Shivering weitestgehend vermieden werden. Für eine 22-stündige Hypothermiebehandlung nach hämorrhagischem Schock entschieden wir uns um im Speziellen ebenfalls wiederum, um die langfristigen Effekte des Schocks und die eventuellen Folgen im Sinne der späten Letalität zu beeinflussen und zu betrachten (Schlag et al. 1991; Rotstein 2003). Auch weil die Datenlange hierzu bisher nicht besonders gut ist (Fukudome u. Alam 2009; Hildebrand et al. 2005; Mommsen et al. 2012; Wladis et al. 2002; Wu et al. 2003; Wu et al. 2005) und wir im speziellen die Auswirkungen der Hypothermie untersuchen wollten, verzichteten wir auf eine Wiedererwärmung im Rahmen dieser Versuchsreihe.

Eine eingeleitete Hypothermie vor Trauma wiederum wäre sehr vielversprechend, gerade aufgrund der der guten Datenlage zur präoperativen Hypothermiebehandlung (Chen et al. 2005; Coyan et al. 2013.; Hildebrand et al. 2005; Gröger et al. 2013) und auch aufgrund der eigenen Vorerfahrungen der Arbeitsgruppe (Gröger et al. 2013), kommt aber als realistische Behandlungsoption für Traumapatienten aus offensichtlichen Gründen nicht in Frage.

Für dieses postinterventionelle Therapiekonzept sprach dementsprechend die Erfahrung aus Vorgängerversuchen im Institut, bei dem Schweine, vor dem kontrollierten Schockgeschehen, auf 32°C heruntergekühlt wurden. Dabei zeigte sich eine bessere Organfunktion und weniger Gewebsschäden bei gleichzeitig verstärkter Laktatazidose am Versuchsende (Gröger et al. 2013). Aber auch andere Arbeitsgruppen kamen zu erfolgversprechenden Ergebnissen für Hypothermiebehandlungen nach Trauma und Schock (George et al. 2010).

Bisher lagen lediglich Daten zu ähnlichen Kombinationsbehandlungen des hämorrhagischen Schocks bei Nagetieren vor (Leonov et al. 2002; Wang et al. 2012). Diese Modelle sind allerdings nicht wegweisend, da die Übertragung von Ergebnissen aus murinen Tiermodellen, aufgrund der Anatomie und Kreislaufphysiologie, nur beschränkt möglich ist (McCook et al. 2014). Ein wesentlicher untersuchter Parameter der vorliegenden Studie war jedoch die Nierenfunktion und die anschließende immunhistochemische Untersuchung des Nierengewebes. Dieser Fokus auf die Niere ist von deshalb so relevant, da die Niere als eines der ersten Organe beim hämorrhagischen Schock in seiner Funktion eingeschränkt ist, durch abfallenden Perfusionsdruck und verstärkte Gewebehypoxie (Tanaka 2004; Wardle 1998). Nagetiere haben allerdings im Vergleich zum Schwein und zum Menschen, die multilobuläre und multipapilläre Nieren besitzen, lediglich eine unilobuläre und unipapilläre Nierenstruktur. Dies wiederum führt zu unterschiedlichen Exkretionswegen und einer komplexeren Blutversorgung der Nierenpyramiden- und Kelchsysteme. Auch die Expression, der in der vorliegenden Arbeit untersuchten CTH-Enzyme, ist von Nagetieren nicht übertragbar auf andere Spezies (McCook et al. 2014). Deshalb eignen sich diese Versuchsmodelle nur bedingt zur Betrachtung der Pathophysiologie des hämorrhagischen Schocks. Zudem ist auch eine so umfassende Instrumentierung und Probenentnahme bei Nagetieren einfach quantitativ nicht möglich und erfordert deshalb einen Großtierversuch wie in der vorliegenden Dissertation. Im Allgemeinen gilt es auch als wissenschaftlich ausreichend evident, dass Experimente am Herz-Kreislauf-System des Schweins gut auf den Menschen übertragbar sind (Hannon et al. 1990). Lediglich die Gerinnungseigenschaften unterscheiden sich relevant beim normalen Hauschwein, weshalb hier auf die sogenannten BMW-Schweine zurückgegriffen haben, die mit ihrem Defekt im Von-Willebrand-Faktor, ähnliche Homöostaseigenschaften, wie der Mensch aufweisen (Velik-Salchner et al. 2006).

4.2 Auswertung der Studienergebnisse

Zunächst wurde in der Versuchsreihe klar festgestellt, dass die Intervention keinerlei Überlebensvorteil bot, denn bis zum Versuchsende überlebten genauso viele Tiere der Interventionsgruppe, wie in der Referenzgruppe.
Bei der Hämodynamik boten beide Gruppen die zu erwartenden Veränderungen eines hämorrhagischen Schocks, allerdings fiel das Herzzeitvolumen in der Interventionsgruppe nicht nur signifikant ab, sondern konnte sich auch, im Gegensatz zur Referenzgruppe, nicht mehr erholen. Dieser Abfall ist allein mit der negativ inotropen Wirkung duch Zelluntergang bei einer milden Hypothermie auf das Myokard nicht zu erklären. Wir vermuten deshalb, dass das verstärkte Capillary Leak-Syndrom zu einer dementsprechend kompromittierten Vor- und Nachlast in der Interventionsgruppe führte. Gleichzeitig nahm zwar die Sauerstoffaufnahme, vermutlich aufgrund der herabgesetzten Stoffwechselleistung, bei erniedrigter Körperkerntemperatur, indiziert auf das Herzzeitvolumen, in der Gruppe mit der experimentellen Therapie ab und in der Referenzgruppe zu. Davon konnten die Tiere aber offensichtlich nicht profitierten, was eben auch mit der schlechteren Herzauswurfleistung zusammenhängen könnte.
Bei der Auswertung der laborchemischen Oxygenierungsparameter des Blutes fiel, außer den zu erwartenden Veränderungen im Rahmen der Hyperoxie, auf, dass die Tiere die hyperoxisch und hypotherm behandelt wurden, im Vergleich zur Kontrollgruppe am Versuchsende, Oxygenierungsprobleme bekommen, die sich in einem signifikanten Abfall des arteriellen Sauerstoffpartialdruckes wiederspiegeln. Eine Erklärung für dieses Phänomen könnte die Kompromittierung des Sauerstoffaustauschs und der Atemmechanik, durch ein sich langsam entwickelndes Lungenödem, im Rahmen des Capillary Leak, sein, das bei hyperoxischen Verhältnissen mit vermehrten radikalen Sauerstoffspezies ungleich stärker sein könnte. Die simultane Hypothermie könnte entsprechende gegenregulierende Mechanismen hemmen und so ein verstärktes ARDS bedingen. Gleichzeitig kam es aber auch, durch die Abnahme des HZV, zu einem signifikanten Abfall des pulmonalen Shuntvolumens innerhalb der Interventionsgruppe, was trotzdem keinen positiven Effekt auf das Outcome der Tiere hatte. Das ist auch gerade deshalb bemerkenswert, da man in dieser Gruppe, die für die Beatmung mit reinem Sauerstoff, typischen Resorptionsatelektasen erwarten hätte können (Kallet u. Matthay 2013; O'Brien 2013).
Von großem Interesse waren im speziellen die Parameter der Nierenfunktion, da dieses Organ als erstes Zeichen der Dysfunktion im Rahmen eines Schockgeschehens zeigt.

Während allgemeine Werte wie renalvenöser pH und Laktat, sowie das nierenfunktionsabhängige Neutrophil-gelatinase-associated-lipocalin (NGAL) nur die zu erwartenden Veränderungen in beiden Gruppen zeigten (Coli et al. 1981; Clerico et al. 2012; Gagneux-Brunon et al. 2012), gab es beim Kreatinin signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Und zwar wies die Kontrollgruppe wesentlich erhöhte Werte gegenüber der Interventionsgruppe auf. Diese Beobachtung könnte sich mit unserer These der verbesserten zytoprotektiven Wirkung der Hyperoxie in Kobination mit der Hypothermie, speziell auf Nierengewebe erklären lassen. Denn in der Immunhistologie ist zwar keine signifikant bessere Regeneration korrelierender Enzymsysteme zu beobachten, aber die Werte zeigen eine recht eindeutige Tendenz zu einer Aufrechterhaltung der CTH-Enzymsysteme. Dahingegen sank allerdings die Kreatinin-Clearance innerhalb der Gruppe, mit der Kombinationsbehandlung, gegen Ende hin signifikant an. Zwischen den Gruppen kam es aber nie zu signifikanten Unterschieden, auch wenn die Entwicklung, bzgl. der verschlechterten renalen Filterfunktion, in beiden Gruppen ähnlich war. Bei Betrachtung der metabolischen Parameter fällt hingegen auf, dass in der Referenzgruppe der arterielle pH-Wert, als auch der Base-Excess schneller abfallen, als in der Gruppe mit experimenteller Intervention. Gleichzeitig weichen sie aber im Vergleich nie so gravierend von der Norm ab.

Der Laktatazidose entwickelt sich erwartungsgemäß in beiden Gruppen während des induzierten Schocks. Die Kontrollgruppe regeneriert sich allerdings nahezu vollständig nach Retransfusion, während die Tiere der Interventionsgruppe weiterhin signifikant schlechtere Werte zeigen. Diese Beobachtung lässt sich womöglich mit dem stärkeren Volumenverlust bei herabgesetzter Gefäßpermeabilität und damit schlechterer Perfusion, sowie des abnehmenden Herzzeitvolumens, erklären.

Diese Entwicklungen sind einerseits mit einem verlangsamten Abbau von Stoffwechselendprodukten zu erklären, die bestätigen, dass eine kontrollierte Hypothermie theoretisch eine „suspended Animation“ abbilden kann, allerdings ohne positiven Effekt zu diesem Zeitpunkt, an dem bereits eine so gravierende Akkumulation von schädlichen Metaboliten stattgefunden hat. Gleichzeitig muss man also annehmen, dass relevante Enzymsysteme derart beeinträchtigt werden, dass sie unter hypothermen Bedingungen, in einem fortgeschrittenen Stadium der Minderperfusion und des zunehmenden Zellstresses, nicht mehr adäquat arbeiten können, was wiederum die fehlende Regeneration der elementaren metabolischen Regelkreisläufe erklären könnte.

Diese Annahme wird ebenfalls untermauert, durch einen stärkeren Anstieg des arteriellen und venösen Hämoglobins, der auf ein verstärktes Capillary Leak, also den Austritt von Wasser aus dem Gefäßbett in den dritten Raum, zurückzuführen ist. Denn dieser Capillary Leak korreliert bekanntermaßen mit dem Ausmaß der Inflammationsreaktion und der Kumulation saurer Metabolite, die ihren Ausgang in der Minderperfusion von Gewebe hat. Diese Nebeneffekte einer Hypothermie sind auch bereits in anderen Studien ausführlich beschrieben worden (Childs et al. 2005; D'amato u. Hegnauer 1953; Heltne et al. 2000; Farstad et al. 2003).

Hinsichtlich der Gerinnung unterschieden sich die Gruppen zwischenzeitlich signifikant in der Thrombozytenzahl, was im Zusammenhang mit dem Studienmodell nicht wirklich erklärbar ist. Während gleichzeitig die Clot-Firmness in beiden Gruppen signifikant abnahm verlängerte sich die Clotting-Time, also die Zeit bis zur Gerinnselbildung, lediglich innerhalb der Interventionsgruppe signifikant, ohne aber am Ende statistisch wesentlich schlechter als in der Kontrollgruppe zu sein. Diese Entwicklung ist vermutlich durch die herabgesetzte Körpertemperatur zu erklären, auch wenn es dazu bisher bei milden Hypothermien keine Hinweise gab (Mohr et al. 2013; Rundgren u. Engstrom 2008; Rohrer u. Natale 1992; Staikou et al. 2011).

Ein wesentlicher Aspekt dieser Studie war die Entwicklung einer systemischen Entzündungsreaktion nach hypoxischen Gewebsschäden (Rodriguez-Gaspar et al. 2001; Baker et al. 2012). Weshalb, hauptsächlich mittels ELISA, verschiedene Zytokine, die an der Inflammation beteiligt sind, nachgewiesen wurden (Herzum u. Renz 2008; Oberhoffer et al. 2000). Hierbei konnten allerdings keinerlei signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen gemessen werden. Es kam lediglich zu situationsgerechten Anstiegen innerhalb der Gruppen passend zum Versuchsablauf, was bedeutet, dass die experimentelle Therapie, zumindest innerhalb der ersten 24 Stunden nach Trauma, tendenziell keinen Effekt auf die systemische Inflammationsreaktion hatte. Allerdings liegen auch Daten aus anderen Studien vor, die eine unter Hypothermie verzögerte Reaktion immunmodulierender Substanzen zeigen konnten (Fairchild et al. 2000; Fairchild et al. 2004). Ein klassisches SIRS kann also durch diese Behandlung nicht therapiert werden, folglich ist sie ohne positiven Effekt für das Outcome.

Außerdem wurde der kardialen Zelluntergangsparameter Troponin mittels ELISA bestimmt und auch hier keinerlei Unterschiede festgestellt, was wiederum auch eine relevante kardiotoxische Wirkung der Hypothermie unwahrscheinlich macht (Babuin u. Jaffe 2005;

O'Brien 2008), aber auch auf die oben genannten Hemmungen der Enzymkaskaden durch die Hypothermiebehandlung zurückzuführen sein könnte.
Bezugnehmend auf die formulierten speziellen Fragestellungen in der Einleitung dieser Dissertation lässt sich sagen, dass unsere Experimentelle Kombinationstherapie keinen positiven Einfluss auf die Ausprägung der Organschäden, der inflammatorischen Systemreaktion und den oxidativen bzw. nitrosativen Stress hat. Die Frage, ob eine solche Therapie in dieser Situation das Gerinnungssystem kompromittiert, kann nicht abschließend beantwortet werden, die erhobenen Daten zeigen allerdings negative Tendenzen auf. Eine signifikante Beeinflussung der Sauerstoffschuld konnte somit ebenfalls nicht erreicht werden.

4.3 Kontroverse zum Studienmodell

Zunächst wäre anzumerken, dass um dem Tierschutz zu genügen, das Initialtrauma der Versuchstiere, also die Instrumentierung, bereits unter Narkose geschah. Dieser Umstand ist präklinisch quasi nie gegeben und kann durch physiologische Reaktionen auf Narkose und künstliche Beatmung natürlich zu Verzerrungen von Messparametern führen. Im speziellen sind zum Beispiel die intrathorakalen Drücke durch die Überdruckbeatmung logischerweise nicht physiologisch und können zu Problemen bei der Herzmechanik im und nach dem hämorrhagischen Schock führen (Marino et al. 2004; Nilsson et al. 2013; Ryan et al. 2008; Vigani et al. 2011). Aber auch die Auswirkungen der Narkosemedikamente auf das Immunsystem und die Thermoregulation sind noch nicht ausreichend geklärt, um Interaktionen sicher ausschließen zu können (Lisowska et al. 2013; Lenhardt 2010).
Außerdem verfälschen wir durch die monophasische „Traumasimulation“, im Rahmen der Instrumentierung der Versuchstiere, den realistischen Ablauf einer Traumatisierung Schwerverletzter. So wird das oft postulierte pathophysiologische Zusammenspiel von „First Hit“ (Initialtrauma) und „second hit“ (posttraumatische Komplikationen, notwendige chirurgische Eingriffe, etc.), die zusammen wesentlich für die systemische Inflamationsreaktion verantwortlich gemacht werden, ausgehebelt (Rotstein 2003; Hietbrink et al. 2006).
Natürlich muss man sich bei diesem Modell auch fragen, wie realistisch diese Art der „Traumasimulation“ ist und ob klassische Mehrfachverletzte aufgrund der Unfallmechanismen nicht auch andere Kompensationsreaktionen zeigen.

Als letztes wäre der Zeitpunkt unserer Intervention zu diskutieren. So ist ein vier Stunden andauernder hämorrhagischer Schock in der Realität der bundesdeutschen Präklinik, aufgrund seiner flächendeckenden Versorgung, sehr unwahrscheinlich, aber für das Versuchsmodell notwendig.
Während die vorgeschlagene hyperoxische Beatmung von Polytraumatisierten ohne weiteres umzusetzen ist, ist eine gezielte und stabile Abkühlung präklinisch schwierig umzusetzen und zu kontrollieren, aber auch nicht gänzlich unmöglich. Wobei hier vermutlich einfachere Mittel, wie gekühlte Infusionen und externe Kühl-Aggregate eingesetzt werden, da die präklinische Anlage eines Cool-Guard®-Katheters eine zielgerichtete Versorgung des Patienten nur unnötig verzögern würde und außerdem ausreichende klinische Erfahrung beim Rettungsdienstpersonal voraussetzt.

4.4 Schlussfolgerung

Auch wenn wir durch das Experiment keine konkreten neuen Ansätze für die Therapie des hämorrhagischen Schocks nach schwerem Trauma entwickeln konnte, konnten einige interessante und hoch aktuelle Aspekte der modernen Schockversorgung weitergehend betrachtet werden.
Klar geht aus diesen Experimenten hervor, dass eine therapeutische Hypothermie mit 22 h Dauer in der Traumaversorgung nur einen begrenzten Raum hat und höchstwahrscheinlich keine Anwendung in professionellen klinischen Settings finden wird. In der frühen Versorgung eines schweren Blutverlustes scheint sie zumindest ungeeignet, das Outcome des Patienten überhaupt zu verbessern. Die signifikante Herabsetzung, der Homöostaseeigenschaften des Blutes, sowie die unveränderte inflammatorische Antwort auf das Schockgeschehen konnten in unserer Versuchsreihe, im Vergleich zur klassisch behandelten Referenzgruppe, gut belegt werden und untermauern die Daten verschiedener anderer Projekte mit ähnlichen Fragestellungen (Coyan et al. 2013.; Kheirbek et al. 2009).
Andererseits ist klar, dass in diesem Gebiet noch viel wissenschaftliche Arbeit geleistet werden muss, da es viele gute Ansätze für therapeutische Hypothermie-Behandlungen von Schwerstverletzten gibt (Coyan et al. 2013; Gröger et al. 2013; Wu et al. 2005).
Die Frage ob die kurzfristige gezielte Beatmung mit purem Sauerstoff eine effektive Maßnahme der akuten Schockbekämpfung ist, ist dahingegen nicht so gut zu beantworten. Da im Rahmen unserer Versuchsreihe, auch Behandlungsversuche mit isolierter Hypothermie und isolierter Hyperoxie durchgeführt wurden und diese zu sehr verschiedenen

Ergebnissen gekommen sind, muss die hyperoxische Beatmung differenziert betrachtet werden.

So konnten wir aufgrund unserer Kombinationsbehandlung auch nicht ausschließen, dass die Mischung der Therapiekonzepte zu einer signifikant verschlechterten Toleranz, gegenüber der kurzfristigen einsetzenden toxischen Wirkungen der Beatmung mit purem Sauerstoff, führte, wie sie so auch in vielen anderen Studien beschrieben wird (Kallet u. Matthay 2013; Zander 2005; Bitterman 2009). Auch wenn wir in Vorgängerexperimenten durchaus belegen konnten, dass ein kurzfristiges hyperoxisches Beatmungsregime in Tierversuchen keinerlei relevante Nebenwirkungen hat, so lange ein Zeitfenster zwischen 12 und 24 Stunden eingehalten wird (Calzia et al. 2010).

Eine reine Behandlung mit 100% Sauerstoff, ohne Hypothermie sollte in weiteren Versuchen getrennt untersucht werden.

Damit bleibt auch mit Sicherheit zu sagen, dass auf dem Gebiet der Kombination von Hyperoxie und Hypothermie noch ein beschwerlicher Weg zu gehen ist, um die pathophysiologischen Auswirkungen dieser Verfahren weiter zu eruieren und nachvollziehen zu können (Janz et al. 2012; Wang et al. 2012).

Was unser Experiment allerdings klar belegen konnte ist, dass eine posttraumatische Hypothermie bei hämorrhagischen Schock, kombiniert mit der üblichen Beatmung mit purem Sauerstoff keine signifikante Verbesserung der Organfunktion und der Inflammationsreaktion erzielen konnte. Diese Erkenntnis unterstreicht im Gegenteil den so oft angemahnten und genauso oft vernachlässigten Wärmeerhalt beim Traumapatienten. Selbst moderate Temperaturveränderungen haben so nachgewiesenermaßen Effekte auf die Ausprägung der Pathologie innerhalb der ersten 24 Stunden nach Trauma (Mommsen et al. 2012). Die akzidentielle Hypothermie ist also weiterhin als nicht unwesentliche Ursache für die Letalität präklinisch unzureichend aufgewärmter Patienten zu betrachten und damit unbedingt zu vermeiden (Mommsen et al. 2013).

5 ZUSAMMENFASSUNG

Aktuelle Forschungsergebnisse lassen einen günstigen Effekt von präventiven Hypothermien vor Trauma, speziell vor der Durchführung elektiver chirurgischer Eingriffe, vermuten. Außerdem gaben Vorarbeiten unseres Institutes Hinweise auf verminderte Gewebsschädigung der Nieren bei postinterventioneller hochdosierter Sauerstoffgabe.

Thema dieser Dissertation war deshalb eine experimentelle Therapie zur Behandlung des hämorrhagischen Schocks. Im Rahmen eines Tierversuchsmodells sollte evaluiert werden, ob eine Kombination von posttraumatischer therapeutischer Hypothermie und hyperoxischer Beatmung die späte Letalität nach hämorrhagischem Schock, verursacht durch ein Systemic-Inflammatory-Response-Syndrom (SIRS), reduzieren kann. Diese Intervention sollte folglich den Sauerstoffbedarf optimieren und gleichzeitig das Sauerstoffangebot maximieren, um den „circulus vitiosus“ des Schocks, abzumildern.

Dafür wurden im Rahmen eines Großtierversuches 9 Schweine in der Experimentalgruppe und nochmal 9 Schweine in einer Kontrollgruppe in einem 36-stündigen Versuchssetting untersucht. Nach initialer Narkoseeinleitung und anschließender Instrumentierung erfolgte, nach einer Ruhepause, die Auslösung des Schocks (30% des errechneten Blutvolumens, MBP=35 mmHg). Nach weiteren vier Stunden im manifesten Schock, wurden die Versuchstiere retransfundiert und mittels Volumengabe und Katecholaminen leitliniengerecht behandelt. In der Versuchsgruppe wurde ab diesem Zeitpunkt eine therapeutische Hypothermie von 34°C, mittels intracorporalem Wärmetauscher (Cool-Guard-Katheter in der V. jugularis) eingeleitet und außerdem eine Beatmung mit purem Sauerstoff begonnen. Die Kontrollgruppe blieb normotherm und wurde standardmäßig, nach Steuerung über die Sauerstoffsättigung im arteriellen Blut, beatmet. Diese Behandlungsphase dauerte 22 h an. Die Tiere, die nicht bereits in dieser Zeit verstorben waren, wurden mittels Infusion von Pentobarbital und Kaliumchlorid am Versuchsende getötet.

Während der gesamten Zeit wurden zahlreiche hämodynamische, respiratorische und andere Parameter der Physiologie aufgezeichnet. Ergänzend erfolgten stündliche Blutgasanalysen aus arteriellem und renalvenösem Blut. Zusätzlich gab es vier Messzeitpunkte direkt vor und nach hämorrhagischem Schock, sowie nach 12 und 22 Stunden Therapie, an denen separat arterielle und renalvenöse Blutentnahmen zur Messung relevanter laborchemischer Parameter abgenommen wurden. Nach dem Tod der Versuchstiere wurden zur Vervollständigung der Beobachtungen histologische Proben der Nieren entnommen.

Wir konnten keinen positiven Effekt unserer experimentellen Kombinationsintervention feststellen, da genauso viele Tiere überlebten wie in der Referenzgruppe. Bei der Beurteilung einzelner Messungen fielen sogar negative Auswirkungen in der Interventionsgruppe auf. So zeigten die Tiere mit der experimentellen Behandlung signifikant herabgesetzte Herzzeitvolumina und schlechtere metabolische Leitparameter, wie Laktat, pH und Base-Excess. Außerdem wurde das Gerinnungssystem negativ beeinflusst. Zusätzlich kam es zu schwerwiegenderen Mikrozirkulationsstörungen, samt verstärktem Cappilary-Leak-Syndrom.

Daher lässt sich aus diesem Versuchsmodell kein Hinweis für einen Nutzen der Kombination von therapeutischer Hypothermie und normobarer Hyperoxie nach hämorrhagischem Schock ableiten.

6 LITERATURVERZEICHNIS

1. Adib-Conquy M, Cavaillon J: [Host inflammatory and anti-inflammatory response during sepsis]. Pathologie Biologie, 60: 306-313 (2012)
2. Aggarwal A, Schneider D, Terrien E, Gilbert K, Dauerman H: Increase in interleukin-6 in the first hour after coronary stenting: an early marker of the inflammatory response. Journal of Thrombosis & Thrombolysis, 15: 25-31 (2003)
3. Alam H B, Duggan M, Li Y, Spaniolas K, Liu B, Tabbara M, Demoya M, Sailhamer E A, Shults C, Velmahos G C: Putting life on hold-for how long? Profound hypothermic cardiopulmonary bypass in a Swine model of complex vascular injuries. Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care, 64: 912-922 (2008)
4. Angele M K, Schneider C P, Chaudry I H: Bench-to-bedside review: latest results in hemorrhagic shock. Critical Care (London, England), 12: 218 (2008)
5. Annane D, Siami S, Jaber S, Martin C, Elatrous S, Declere A D, Preiser J C, Outin H, Troche G, Charpentier C, Trouillet J L, Kimmoun A, Forceville X, Darmon M, Lesur O, Regnier J, Abroug F, Berger P, Clec'h C, Cousson J, Thibault L, Chevret S, Cristal I: Effects of fluid resuscitation with colloids vs crystalloids on mortality in critically ill patients presenting with hypovolemic shock: the CRISTAL randomized trial. JAMA, 310: 1809-1817 (2013)
6. Aslami H, Heinen A, Roelofs J J, Zuurbier C J, Schultz M J, Juffermans N P: Suspended animation inducer hydrogen sulfide is protective in an in vivo model of ventilator-induced lung injury. Intensive care medicine, 36: 1946-1952 (2010)
7. Aslami H, Schultz M J, Juffermans N P: Potential applications of hydrogen sulfide-induced suspended animation. Current medicinal chemistry, 16: 1295-1303 (2009)
8. Babuin L, Jaffe A S: Troponin: the biomarker of choice for the detection of cardiac injury. CMAJ Canadian Medical Association Journal, 173: 1191-1202 (2005)
9. Baker TA, Romero J, Bach HH 4th, Strom JA, Gamelli RL, Majetschak M: Systemic release of cytokines and heat shock proteins in porcine models of polytrauma and hemorrhage*. Critical Care Medicine, 40: 876-885 (2012)
10. Bandschapp O, Iaizzo P A: Induction of therapeutic hypothermia requires modulation of thermoregulatory defenses. Therapeutic hypothermia and temperature management, 1: 77-85 (2011)

11. Bardenheuer M, Obertacke U, Waydhas C, Nast-Kolb D: [Epidemiology of the severely injured patient. A prospective assessment of preclinical and clinical management. AG Polytrauma of DGU]. Unfallchirurg, 103: 355-363 (2000)

12. Barth E, Bassi G, Maybauer D M, Simon F, Groger M, Oter S, Speit G, Nguyen C D, Hasel C, Moller P, Wachter U, Vogt J A, Matejovic M, Radermacher P, Calzia E: Effects of ventilation with 100% oxygen during early hyperdynamic porcine fecal peritonitis. Critical Care Medicine, 36: 495-503 (2008)

13. Beilman G, Blondet J, Nelson T, Nathens A, Moore F, Rhee P, Puyana J, Moore E, Cohn S: Early hypothermia in severely injured trauma patients is a significant risk factor for multiple organ dysfunction syndrome but not mortality. Ann Surg.2009 May;249(5):845-50. doi: 10.1097/SLA.0b013e3181a41f6f., (2009)

14. Bitterman H: Bench-to-bedside review: oxygen as a drug. Critical Care (London, England), 13: 205 (2009)

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

16. Bouillon B, Probst C, Maegele M, Wafaisade A, Helm P, Mutschler M, Brockamp T, Shafizadeh S, Paffrath T: Emergency room management of multiple trauma: ATLS(R) and S3 guidelines. Der Chirurg; Zeitschrift fur alle Gebiete der operativen Medizen, 84: 745-752 (2013)

17. Bouzat P, Suys T, Sala N, Oddo M: Effect of moderate hyperventilation and induced hypertension on cerebral tissue oxygenation after cardiac arrest and therapeutic hypothermia. Resuscitation, 84: 1540-1545 (2013)

18. Bracht H, Scheuerle A, Groger M, Hauser B, Matallo J, McCook O, Seifritz A, Wachter U, Vogt J A, Asfar P, Matejovic M, Moller P, Calzia E, Szabo C, Stahl W, Hoppe K, Stahl B, Lampl L, Georgieff M, Wagner F, Radermacher P, Simon F: Effects of intravenous sulfide during resuscitated porcine hemorrhagic shock*. Critical Care Medicine, 40: 2157-2167 (2012)

19. Calzia E, Asfar P, Hauser B, Matejovic M, Ballestra C, Radermacher P, Georgieff M: Hyperoxia may be beneficial. Critical Care Medicine, 38: S559-68 (2010)

20. Cavalcante FP, Nani RS, Filho JA, Auler Junior JO, Carmona MJ, Machado MC: Experimental model of non-controlled hemorrhagic shock in pigs. Revista brasileira de anestesiologia, 61: 793-797 (2011)

21. Chatterjee K: The Swan-Ganz catheters: past, present, and future. A viewpoint. Circulation, 119: 147-152 (2009)

22. Chen Z, Chen H, Rhee P, Koustova E, Ayuste E C, Honma K, Nadel A, Alam H B: Induction of profound hypothermia modulates the immune/inflammatory response in a swine model of lethal hemorrhage. Resuscitation, 66: 209-216 (2005)

23. Childs EW, Udobi KF, Hunter FA: Hypothermia reduces microvascular permeability and reactive oxygen species expression after hemorrhagic shock. Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care, 58: 271-277 (2005)

24. Clerico A, Galli C, Fortunato A, Ronco C: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as biomarker of acute kidney injury: a review of the laboratory characteristics and clinical evidences. Clinical Chemistry & Laboratory Medicine, 50: 1505-1517 (2012)

25. Coli G, Donati A, Grillone G, Marinelli L, Piccinni L, Prandini R, Stefoni S, Zanoni A: [The kidney in shock. Changes of some hemodynamic and bio-humoral parameters. II]. Bollettino - Societa Italiana Biologia Sperimentale, 57: 1985-1991 (1981)

26. Coyan G N, Moncure M, Thomas J H, Holloway N, Wood J G: Effect of induced hypothermia on microvascular inflammation during hemorrhagic shock/resuscitation. FASEB Journal, 27: 1193.2 (2013.)

27. Coyan G N, Wood J G, Moncure M, Thomas J H: Induced hypothermia during resuscitation from hemorrhagic shock attenuates microvascular inflammation in the rat mesenteric microcirculation. Journal of the American College of Surgeons.Conference: 99th Annual Clinical Congress of the American College of Surgeons Washington, DC United States.Conference Start: 20131006 Conference End: 20131010.Conference Publication: (var. pagings), 217: S47-S48 (2013)

28. D'amato He, Hegnauer Ah: Blood volume in the hypothermic dog. American Journal of Physiology, 173: 100-102 (1953)

29. Darwish R, Amiridze N, Aarabi B: Nitrotyrosine as an oxidative stress marker: evidence for involvement in neurologic outcome in human traumatic brain injury. Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care, 63: 439-442 (2007)

30. David J S, Spann C, Marcotte G, Reynaud B, Fontaine O, Lefevre M, Piriou V: Haemorrhagic shock, therapeutic management. Annales Francaises d Anesthesie et de Reanimation, 32: 497-503 (2013)

31. Eastridge BJ, Malone D, Holcomb JB: Early predictors of transfusion and mortality after injury: a review of the data-based literature. Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care, 60: 20-25 (2006)

32. Eleuteri E, Di Stefano A, Ricciardolo F, Magno F, Gnemmi I, Colombo M, Anzalone R, Cappello F, La Rocca G, Tarro Genta F, Zummo G, Giannuzzi P: Increased nitrotyrosine plasma levels in relation to systemic markers of inflammation and myeloperoxidase in chronic heart failure. International journal of cardiology, 135: 386-390 (2009)

33. Eltzschig H K, Carmeliet P: Hypoxia and inflammation. The New England journal of medicine, 364: 656-665 (2011)

34. Eltzschig H K, Eckle T: Ischemia and reperfusion--from mechanism to translation. Nature medicine, 17: 1391-1401 (2011)

35. Fairchild KD, Viscardi RM, Hester L, Singh IS, Hasday JD: Effects of hypothermia and hyperthermia on cytokine production by cultured human mononuclear phagocytes from adults and newborns. Journal of Interferon & Cytokine Research, 20: 1049-1055 (2000)

36. Fairchild K D, Singh I S, Patel S, Drysdale B E, Viscardi R M, Hester L, Lazusky H M, Hasday J D: Hypothermia prolongs activation of NF-kappaB and augments generation of inflammatory cytokines. American journal of physiology. Cell physiology, 287: C422-31 (2004)

37. Farstad M, Heltne JK, Rynning SE, Lund T, Mongstad A, Eliassen F, Husby P: Fluid extravasation during cardiopulmonary bypass in piglets--effects of hypothermia and different cooling protocols. Acta Anaesthesiologica Scandinavica, 47: 397-406 (2003)

38. Fukudome E Y, Alam H B: Hypothermia in multisystem trauma. Critical Care Medicine, 37: S265-72 (2009)

39. Furlan M: Von Willebrand factor: molecular size and functional activity. Annals of Hematology, 72: 341-348 (1996)

40. Gagneux-Brunon A, Delanaye P, Legrand D, Cavalier E, Mariat C: [NGAL, biomarker of acute kidney injury in 2012]. Nephrologie et Therapeutique, 8: 508-515 (2012)

41. Gando S, Sawamura A, Hayakawa M: Trauma, shock, and disseminated intravascular coagulation: lessons from the classical literature. Annals of Surgery, 254: 10-19 (2011)

42. George ME, Mulier KE, Beilman GJ: Hypothermia is associated with improved outcomes in a porcine model of hemorrhagic shock. Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care, 68: 662-668 (2010)

43. Gonzalez Balverde M, Ramirez Lizardo E J, Cardona Munoz E G, Totsuka Sutto S E, Garcia Benavides L: Prognostic value of the lethal triad among patients with multiple trauma. Revista medica de Chile, 141: 1420-1426 (2013)

44. Griepp R B, Ergin M A, McCullough J N, Nguyen K H, Juvonen T, Chang N, Griepp E B: Use of hypothermic circulatory arrest for cerebral protection during aortic surgery. Journal of cardiac surgery, 12: 312-321 (1997)

45. Gröger M, Scheuerle A, Wagner F, Simon F, Matallo J, McCook O, Seifritz A, Stahl B, Wachter U, Vogt J A, Asfar P, Matejovic M, Moller P, Lampl L, Bracht H, Calzia E, Georgieff M, Radermacher P, Stahl W: Effects of pretreatment hypothermia during resuscitated porcine hemorrhagic shock. Critical Care Medicine, 41: e105-17 (2013)

46. Hannon J P, Bossone C A, Wade C E: Normal physiological values for conscious pigs used in biomedical research. Laboratory animal science, 40: 293-298 (1990)

47. Hauser B, Barth E, Bassi G, Simon F, Groger M, Oter S, Speit G, Ploner F, Moller P, Wachter U, Vogt J A, Matejovic M, Calzia E, Georgieff M, Radermacher P, Maybauer D M: Hemodynamic, metabolic, and organ function effects of pure oxygen ventilation during established fecal peritonitis-induced septic shock. Critical Care Medicine, 37: 2465-2469 (2009)

48. Hauser C J: Preclinical models of traumatic, hemorrhagic shock. Shock, 24: 24-32 (2005)

49. Heltne JK, Koller ME, Lund T, Bert J, Rynning SE, Stangeland L, Husby P: Dynamic evaluation of fluid shifts during normothermic and hypothermic cardiopulmonary bypass in piglets. Acta Anaesthesiologica Scandinavica, 44: 1220-1225 (2000)

50. Herzum I, Renz H: Inflammatory markers in SIRS, sepsis and septic shock. Current medicinal chemistry, 15: 581-587 (2008)

51. Hietbrink F, Koenderman L, Rijkers G, Leenen L: Trauma: the role of the innate immune system. World journal of emergency surgery: WJES, 1: 15 (2006)

52. Hildebrand F, - A, H., - H, M., - P, H., - van G, M.: Combined Hemorrhage/Trauma Models in Pigs - Current State and Future Perspectives. Shock.2013 Aug 28., 40: 247-273 (2013)

53. Hildebrand F, van Griensven M, Giannoudis P, Schreiber T, Frink M, Probst C, Grotz M, Krettek C, Pape H C: Impact of hypothermia on the immunologic response after trauma and elective surgery. Surgical Technology International, 14: 41-50 (2005)

54. Holcroft J W, Trunkey D D: Pathophysiology of shock and adult respiratory distress syndrome. Surgery annual, 15: 1-12 (1983)

55. Janz D R, Hollenbeck R D, Pollock J S, McPherson J A, Rice T W: Hyperoxia is associated with increased mortality in patients treated with mild therapeutic hypothermia after sudden cardiac arrest. Critical Care Medicine, 40: 3135-3139 (2012)

56. Johnson JL, Moore EE, Kashuk JL, Banerjee A, Cothren CC, Biffl WL, Sauaia A: Effect of blood products transfusion on the development of postinjury multiple organ failure. Archives of Surgery, 145: 973-977 (2010)

57. Kaafarani H M, Velmahos G C: Damage Control Resuscitation In Trauma. Scandinavian journal of surgery: SJS: official organ for the Finnish Surgical Society and the Scandinavian Surgical Society, 103: 81-88 (2014)

58. Kallet R H, Matthay M A: Hyperoxic acute lung injury. Respiratory care, 58: 123-141 (2013)

59. Karmaniolou I I, Theodoraki K A, Orfanos N F, Kostopanagiotou G G, Smyrniotis V E, Mylonas A I, Arkadopoulos N F: Resuscitation after hemorrhagic shock: the effect on the liver--a review of experimental data. Journal of Anesthesia, 27: 447-460 (2013)

60. Kauvar D S, Wade C E: The epidemiology and modern management of traumatic hemorrhage: US and international perspectives. Critical Care (London, England), 9: S1-9 (2005)

61. Kheirbek T, Kochanek A R, Alam H B: Hypothermia in bleeding trauma: a friend or a foe? Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation & Emergency Medicine, 17: 65 (2009)

62. Kim SH, Stezoski SW, Safar P, Tisherman SA: Hypothermia, but not 100% oxygen breathing, prolongs survival time during lethal uncontrolled hemorrhagic shock in rats. Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care, 44: 485-491 (1998)

63. Ledgerwood A M, Blaisdell W: Coagulation challenges after severe injury with hemorrhagic shock. The Journal of Trauma and Acute Care Surgery, 72: 1714-1718 (2012)

64. Lenhardt R: The effect of anesthesia on body temperature control. Frontiers in bioscience (Scholar edition), 2: 1145-1154 (2010)

65. Leonov Y, Safar P, Sterz F, Stezoski SW: Extending the golden hour of hemorrhagic shock tolerance with oxygen plus hypothermia in awake rats. An exploratory study. Resuscitation, 52: 193-202 (2002)

66. Leonov Y, Safar P, Sterz F, Stezoski S W: Extending the golden hour of hemorrhagic shock tolerance with oxygen plus hypothermia in awake rats. An exploratory study. Resuscitation, 52: 193-202 (2002)

67. Lisowska B, Szymanska M, Nowacka E, Olszewska M: Anesthesiology and the cytokine network. Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej (Online), 67: 761-769 (2013)

68. Lomas-Niera J L, Perl M, Chung C S, Ayala A: Shock and hemorrhage: an overview of animal models. Shock, 24: 33-39 (2005)

69. Magder S A: The highs and lows of blood pressure: toward meaningful clinical targets in patients with shock. Critical Care Medicine, 42: 1241-1251 (2014)

70. Malone DL, Dunne J, Tracy JK, Putnam AT, Scalea TM, Napolitano LM: Blood transfusion, independent of shock severity, is associated with worse outcome in trauma. Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care, 54: 898-905 (2003)

71. Marino B S, Yannopoulos D, Sigurdsson G, Lai L, Cho C, Redington A, Nicolson S, Nadkarni V, Lurie K G: Spontaneous breathing through an inspiratory impedance threshold device augments cardiac index and stroke volume index in a pediatric porcine model of hemorrhagic hypovolemia. Critical Care Medicine, 32: S398-405 (2004)

72. Martini W Z, Cortez D S, Dubick M A, Park M S, Holcomb J B: Thrombelastography is better than PT, aPTT, and activated clotting time in detecting clinically relevant clotting abnormalities after hypothermia, hemorrhagic shock and resuscitation in pigs. Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care, 65: 535-543 (2008)

73. Martini W Z, Pusateri A E, Uscilowicz J M, Delgado A V, Holcomb J B: Independent contributions of hypothermia and acidosis to coagulopathy in swine. The Journal of trauma, 58: 1002-9; discussion 1009-10 (2005)

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

75. McCord J M: Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. New England Journal of Medicine, 312: 159-163 (1985)

76. Mikhail J: The trauma triad of death: hypothermia, acidosis, and coagulopathy. AACN Clinical Issues, 10: 85-94 (1999)

77. Mitra B, Tullio F, Cameron P A, Fitzgerald M: Trauma patients with the 'triad of death'. Emergency medicine journal: EMJ, 29: 622-625 (2012)

78. Minei J P, Cuschieri J, Sperry J, Moore E E, West M A, Harbrecht B G, O'Keefe G E, Cohen M J, Moldawer L L, Tompkins R G, Maier R V, Inflammation and the Host Response to Injury Collaborative Research Program: The changing pattern and implications of multiple organ failure after blunt injury with hemorrhagic shock. Critical Care Medicine, 40: 1129-1135 (2012)

79. Mohr J, Ruchholtz S, Hildebrand F, Flohe S, Frink M, Witte I, Weuster M, Frohlich M, van Griensven M, Keibl C, Mommsen P: Induced hypothermia does not impair coagulation system in a swine multiple trauma model. The Journal of Trauma and Acute Care Surgery, 74: 1014-1020 (2013)

80. Mokart D, Merlin M, Sannini A, Brun J, Delpero J, Houvenaeghel G, Moutardier V, Blache J: Procalcitonin, interleukin 6 and systemic inflammatory response syndrome (SIRS): early markers of postoperative sepsis after major surgery. British journal of anaesthesia, 94: 767-773 (2005)

81. Mommsen P, Andruszkow H, Fromke C, Zeckey C, Wagner U, van Griensven M, Frink M, Krettek C, Hildebrand F: Effects of accidental hypothermia on posttraumatic complications and outcome in multiple trauma patients. Injury, 44: 86-90 (2013)

82. Mommsen P, Zeckey C, Frink M, Krettek C, Hildebrand F: [Accidental hypothermia in multiple trauma patients]. Zentralblatt fur Chirurgie, 137: 264-269 (2012)

83. Myburgh J A, Finfer S, Bellomo R, Billot L, Cass A, Gattas D, Glass P, Lipman J, Liu B, McArthur C, McGuinness S, Rajbhandari D, Taylor C B, Webb S A, CHEST Investigators, Australian and New Zealand Intensive Care Society Clinical Trials Group: Hydroxyethyl starch or saline for fluid resuscitation in intensive care. The New England journal of medicine, 367: 1901-1911 (2012)

84. Napolitano L: Cumulative risks of early red blood cell transfusion. Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care, 60: S26-34 (2006)

85. Nilsson L M, Lindenberger D M, Hahn R G: The effect of positive end-expiratory pressure and tripled tidal volume on pleth variability index during hypovolaemia in conscious subjects: a volunteer study. European journal of anaesthesiology, 30: 671-677 (2013)

86. Nozari A, Safar P, Wu X, Stezoski W S, Henchir J, Kochanek P, Klain M, Radovsky A, Tisherman S A: Suspended animation can allow survival without brain damage after traumatic exsanguination cardiac arrest of 60 minutes in dogs. Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care, 57: 1266-1275 (2004)

87. Oberhoffer M, Russwurm S, Bredle D, Chatzinicolaou K, Reinhart K: Discriminative power of inflammatory markers for prediction of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 in ICU patients with systemic inflammatory response syndrome (SIRS) or sepsis at arbitrary time points. Intensive care medicine, 26: S170-4 (2000)

88. O'Brien J: Absorption atelectasis: incidence and clinical implications. AANA Journal, 81: 205-208 (2013)

89. O'Brien P J: Cardiac troponin is the most effective translational safety biomarker for myocardial injury in cardiotoxicity. Toxicology, 245: 206-218 (2008)

90. Parlato M, Cavaillon J M: Host response biomarkers in the diagnosis of sepsis: a general overview. Methods in molecular biology (Clifton, N.J.), 1237: 149-211 (2015)

91. Pehbock D, Wenzel V, Voelckel W, Jonsson K, Herff H, Mittlbock M, Nagele P: Effects of preoxygenation on desaturation time during hemorrhagic shock in pigs. Anesthesiology, 113: 593-599 (2010)

92. Perner A, Haase N, Guttormsen A B, Tenhunen J, Klemenzson G, Aneman A, Madsen K R, Moller M H, Elkjaer J M, Poulsen L M, Bendtsen A, Winding R, Steensen M, Berezowicz P, Soe-Jensen P, Bestle M, Strand K, Wiis J, White J O, Thornberg K J, Quist L, Nielsen J, Andersen L H, Holst L B, Thormar K, Kjaeldgaard A L, Fabritius M L, Mondrup F, Pott F C, Moller T P, Winkel P, Wetterslev J, 6S Trial Group, Scandinavian Critical Care Trials Group: Hydroxyethyl starch 130/0.42 versus Ringer's acetate in severe sepsis. The New England journal of medicine, 367: 124-134 (2012)

93. Polderman K H, Herold I: Therapeutic hypothermia and controlled normothermia in the intensive care unit: practical considerations, side effects, and cooling methods. Critical Care Medicine, 37: 1101-1120 (2009)

94. Riede U N, Mittermayer C, Friedburg H, Sandritter W: [Pathology and pathophysiology of circulatory shock with respect to shock lung (author's transl)]. Unfallchirurgie, 7: 97-104 (1981)

95. Rodriguez-Gaspar M, Santolaria F, Jarque-Lopez A, Gonzalez-Reimers E, Milena A, de la Vega M J, Rodriguez-Rodriguez E, Gomez-Sirvent J L: Prognostic value of cytokines in SIRS general medical patients. Cytokine, 15: 232-236 (2001)

96. Rohrer M J, Natale A M: Effect of hypothermia on the coagulation cascade. Critical Care Medicine, 20: 1402-1405 (1992)

97. Rotstein O D: Modeling the two-hit hypothesis for evaluating strategies to prevent organ injury after shock/resuscitation. Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care, 54: S203-6 (2003)

98. Rundgren M, Engstrom M: A thromboelastometric evaluation of the effects of hypothermia on the coagulation system. Anesthesia & Analgesia, 107: 1465-1468 (2008)

99. Ryan K L, Cooke W H, Rickards C A, Lurie K G, Convertino V A: Breathing through an inspiratory threshold device improves stroke volume during central hypovolemia in humans. Journal of applied physiology, 104: 1402-1409 (2008)

100. Sambasivan C N, Schreiber M A: Emerging therapies in traumatic hemorrhage control. Current opinion in critical care, 15: 560-568 (2009)

101. Schlag G, Redl H, Hallstrom S: The cell in shock: the origin of multiple organ failure. Resuscitation, 21: 137-180 (1991)

102. Schoeneberg C, Schilling M, Keitel J, Kauther M D, Burggraf M, Hussmann B, Lendemans S: TraumaNetwork, Trauma Registry of the DGU(R), Whitebook, S3 Guideline on Treatment of Polytrauma/Severe Injuries - An Approach for Validation by a Retrospective Analysis of 2304 Patients (2002-2011) of a Level 1 Trauma Centre. Zentralblatt fur Chirurgie, 142(2): 188-208 (2014)

103. Seitz D H, Froba J S, Niesler U, Palmer A, Veltkamp H A, Braumuller S T, Wagner F, Wagner K, Bader S, Wachter U, Calzia E, Radermacher P, Huber-Lang M S, Zhou S, Gebhard F, Knoferl M W: Inhaled hydrogen sulfide induces suspended animation, but does not alter the inflammatory response after blunt chest trauma. Shock, 37: 197-204 (2012)

104. Sessler D I: Thermoregulatory defense mechanisms. Critical Care Medicine, 37: S203-10 (2009)

105. Sondeen JL, Dubick MA, Holcomb JB, Wade CE: Uncontrolled hemorrhage differs from volume- or pressure-matched controlled hemorrhage in swine. Shock, 28: 426-433 (2007)

106. Soni S S, Ronco C, Katz N, Cruz D N: Early diagnosis of acute kidney injury: the promise of novel biomarkers. Blood purification, 28: 165-174 (2009)

107. Staikou C, Paraskeva A, Drakos E, Anastassopoulou I, Papaioannou E, Donta I, Kontos M: Impact of graded hypothermia on coagulation and fibrinolysis. Journal of Surgical Research, 167: 125-130 (2011)

108. Sukhotnik I, Brod V, Lurie M, Rahat M A, Shnizer S, Lahat N, Mogilner J G, Bitterman H: The effect of 100% oxygen on intestinal preservation and recovery following ischemia-reperfusion injury in rats. Critical Care Medicine, 37: 1054-1061 (2009)

109. Swan H J, Ganz W, Forrester J, Marcus H, Diamond G, Chonette D: Catheterization of the heart in man with use of a flow-directed balloon-tipped catheter. New England Journal of Medicine, 283: 447-451 (1970)

110. Takasu A, Carrillo P, Stezoski SW, Safar P, Tisherman SA: Mild or moderate hypothermia but not increased oxygen breathing prolongs survival during lethal uncontrolled hemorrhagic shock in rats, with monitoring of visceral dysoxia. Critical Care Medicine, 27: 1557-1564 (1999)

111. Tanaka N: Induction mechanism of shock: applying the etiology in judgment of the cause of death in forensic practice. Nihon hoigaku zasshi = The Japanese journal of legal medicine, 58: 130-140 (2004)

112. Terregino C, Quinn J, Slotman G: Pilot study of cytokines in emergency department patients with systemic inflammatory response syndrome. Academic Emergency Medicine, 4: 684-688 (1997)

113. Thorsen K, Ringdal K G, Strand K, Soreide E, Hagemo J, Soreide K: Clinical and cellular effects of hypothermia, acidosis and coagulopathy in major injury. British Journal of Surgery, 98: 894-907 (2011)

114. Tisherman S A: The yin and yang of hypothermia in trauma. Journal of intensive care medicine, 25: 240-242 (2010)

115. Tisherman S A: Suspended animation for resuscitation from exsanguinating hemorrhage. Critical Care Medicine, 32: S46-50 (2004)

116. Velik-Salchner C, Schnurer C, Fries D, Mussigang P R, Moser P L, Streif W, Kolbitsch C, Lorenz I H: Normal values for thrombelastography (ROTEM) and selected coagulation parameters in porcine blood. Thrombosis research, 117: 597-602 (2006)

117. Viappiani S, Schulz R: Detection of specific nitrotyrosine-modified proteins as a marker of oxidative stress in cardiovascular disease. American Journal of Physiology - Heart & Circulatory Physiology, 290: H2167-8 (2006)

118. Vigani A, Shih A C, Buckley G J, Londono L, Bandt C: Cardiopulmonary effects of a new inspiratory impedance threshold device in acute hemorrhagic shock in dogs. Journal of veterinary emergency & critical care, 21: 618-624 (2011)

119. Vincent JL, Dutton R, Parr M, Hauser C: Massive bleeding in polytrauma: how can we make progress?. Critical Care (London, England), 15: 196 (2011)

120. Wagner F, Scheuerle A, Weber S, Stahl B, McCook O, Knoferl M W, Huber-Lang M, Seitz D H, Thomas J, Asfar P, Szabo C, Moller P, Gebhard F, Georgieff M, Calzia E, Radermacher P, Wagner K: Cardiopulmonary, histologic, and inflammatory effects of intravenous Na2S after blunt chest trauma-induced lung contusion in mice. Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care, 71: 1659-1667 (2011)

121. Wang Q, Yang J, Long C, Zhao J, Li Y, Xue Q, Cheng L, Cheng W: Hyperoxia management during deep hypothermia for cerebral protection in circulatory arrest rabbit model. ASAIO Journal (American Society for Artificial Internal Organs: 1992), 58: 330-336 (2012)

122. Wardle E N: Pathogenesis of acute renal failure: shock-kidneys. Saudi journal of kidney diseases and transplantation: an official publication of the Saudi Center for Organ Transplantation, Saudi Arabia, 9: 231-236 (1998)

123. Wen C, Li M, Whitworth J A: Validation of transonic small animal flowmeter for measurement of cardiac output and regional blood flow in the rat. Journal of cardiovascular pharmacology, 27: 482-486 (1996)

124. Wladis A, Hahn R G, Brismar B, Kjellstrom B T: Induced hypothermia after high-energy soft-tissue injury and subsequent hemorrhagic shock. Shock (Augusta, Ga.), 17: 120-126 (2002)

125. Wu X, Stezoski J, Safar P, Nozari A, Tisherman S: After spontaneous hypothermia during hemorrhagic shock, continuing mild hypothermia (34 degrees C) improves early but not late survival in rats. J Trauma.2003 Aug;55(2):308-16., (2003)

126. Wu X, Kochanek P M, Cochran K, Nozari A, Henchir J, Stezoski S W, Wagner R, Wisniewski S, Tisherman S A: Mild hypothermia improves survival after prolonged, traumatic hemorrhagic shock in pigs. Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care, 59: 291-299 (2005)

127. Wu X, Stezoski J, Safar P, Bauer A, Tuerler A, Schwarz N, Kentner R, Behringer W, Kochanek P M, Tisherman S A: Mild hypothermia during hemorrhagic shock in rats improves survival without significant effects on inflammatory responses. Critical Care Medicine, 31: 195-202 (2003)

128. Yang X, Hachimi-Idrissi S, Nguyen DN, Zizi M, Huyghens L: Effect of resuscitative mild hypothermia and oxygen concentration on the survival time during lethal uncontrolled haemorrhagic shock in mechanically ventilated rats. European Journal of Emergency Medicine, 11: 210-216 (2004)

129. Yao Y M, Redl H, Bahrami S, Schlag G: The inflammatory basis of trauma/shock-associated multiple organ failure. Inflammation Research, 47: 201-210 (1998)

130. Zander R: Erratum: Physiologie und klinischer nutzen einer hyperoxie (Anasthesiologie Intensivmedizin Notfallmedizin Schmerztherapie (2005) 40 (616-632)). Anasthesiologie Intensivmedizin Notfallmedizin Schmerztherapie, 40: 772 (2005)

LEBENSLAUF

Name: Rouven Hornung
Geburtsjahr: 1986
Geburtsort: Saarbrücken

Bildung:

1992-1996 Grundschule: Hohe-Wacht-Grundschule, Saarbrücken

1996-2005 Gymnasium: Gymnasium am Schloss, Saarbrücken

Juli 2005 allgemeine Hochschulreife

Zivildienst:

01.08.05 – 30.4.06: Zivildienst als Helfer in der Krankenpflege, Winterberg-Klinikum Saarbrücken

Berufsausbildung:

01.07.06 – 13.10.06: Ausbildung zum Rettungssanitäter und Hygienebeauftragten, DRK- Saarland, Saarbrücken

18.09.06 – 31.01.08: Freiwilliges soziales Jahr im Rettungsdienst, Saarbrücken

05.02.08 – 3.7.09: Ausbildung zum Rettungsassistenten, DRK-Saarland, Saarbrücken

Studium:

10/09 bis 12/15: Studium der Humanmedizin an der Universität Ulm

Arbeitnehmertätigkeit:

01.02.16 bis jetzt: Beginn der Facharztausbildung zum Anästhesisten am Universitätsklinikum Innsbruck, Österreich

Veröffentlichungen:

1. Elisabeth Knöller cand.med., Tatjana Stenzel cand.med., Friederike Broeskamp cand.med., **Rouven Hornung cand.med.**, Angelika Scheuerle M.D., Oscar McCook B.Sc., Ulrich Wachter M.Sc., Josef A. Vogt Ph.D., José Matallo Ph.D., Martin Wepler M.D., Holger Gässler M.D., Michael Gröger Ph.D., Martin Matejovic M.D., Ph.D., Enrico Calzia M.D., Ph.D., Lorenz Lampl M.D., Ph.D., Michael Georgieff M.D., Ph.D., Peter Möller M.D., Ph.D., Pierre Asfar M.D., Ph.D., Peter Radermacher M.D., Ph.D., Sebastian Hafner M.D.: Effects of hyperoxia and mild therapeutic hypothermia during resuscitation from porcine hemorrhagic shock“
Crit Care Med. Mai 2016